



**Mètodes
d'investigació
de l'hepatitis B**

Institut d'Educació Secundària

Narcís Monturiol

MÈTODES D'INVESTIGACIÓ DE L'HEPATITIS B

Treball de recerca curs 2009-2010

Tutores: Sònia Costa i Mònica Barranco

Víctor Lahoz Tena

2on BATX

Data de presentació: 29 de gener del 2010

*“Onsevulla que s’estima l’art de la medicina,
s’estima també a la humanitat”, Plató*

ÍNDEX

PRÒLEG	3
INTRODUCCIÓ	
1. ORIGEN DE L'HEPATITIS I ELS SEUS PRIMERS ESTUDIS.....	5
2. ANATOMIA DEL FETGE.....	8
2.1. Histologia hepàtica.....	10
2.2. Fisiologia hepàtica	11
3. TIPOLOGIA I EPIDEMIOLOGIA DE LES HEPATITIS VÍRIQUES	13
3.1. Hepatitis A	14
3.1.1. Epidemiologia.....	14
3.2. Hepatitis B.....	15
3.2.1. Epidemiologia.....	15
3.3. Hepatitis C.....	16
3.3.1. Epidemiologia.....	16
3.4. Hepatitis D	17
3.4.1. Epidemiologia.....	17
3.5. Hepatitis E.....	18
3.5.1. Epidemiologia.....	18
3.6. Hepatitis G	19
3.6.1. Epidemiologia.....	19
3.7. Hepatitis TT	19
3.7.1. Epidemiologia.....	19
4. L'HEPATITIS B	20
4.1. Replicació viral: el cicle lític	21
4.2. La variabilitat genètica i els genotips.....	22
4.3. Les mutacions al genoma del virus de l'hepatitis B.....	23
5. SÍMPTOMES QUE PROVOCA L'HEPATITIS B	23
6. TRACTAMENT	24
6.1. Tractament de l'hepatitis B aguda	24
6.2. Tractament de l'hepatitis B crònica	25
6.2.1. Objectius.....	25

6.2.2. Selecció dels pacients	25
6.2.3. Tipologia de fàrmacs pel tractament de l'hepatitis B	26
6.2.3.1. Interferó-alfa	26
6.2.3.2. Lamivudina	26
6.2.3.3. Adevofir	27
6.2.3.4. Entecavir	27
6.2.4. Tractament de l'hepatitis crònica B amb coinfecció de VIH	27
6.2.4.1. Taula-resum del tractament d'hepatitis crònica B	28
6.2.5. Pronòstic de l'hepatitis B crònica	28
6.2.6. Protocol de seguiment de l'hepatitis crònica B	29
6.3. Tractament quirúrgic	29
7. POBLACIÓ DE RISC	30
COS DEL TREBALL	
8. TÈCNiques CIENTÍFIQUES RELACIONADES AMB L'HEPATITIS B OBSERVADES A L'HOSPITAL CARLOS III	32
8.1. Separació de la sang en cèl·lules i plasma	32
8.2. Càrrega viral	34
8.3. PCR	35
8.4. Genotipació	37
8.5. Seqüenciació	38
9. ENTREVISTES	39
9.1. Entrevista al Dr. Narcís Baguer	39
9.2. Entrevista a la Dra. Maria Victoria Humet Matilla	41
CONCLUSIÓ	46
REFERÈNCIES	48
ANNEXOS	49

PRÒLEG

Primerament, he escollit el tema de l'hepatitis B com a treball de recerca perquè, en un futur, m'agradaria tenir una feina relacionada amb aquest tema o amb el món de la salut pública, en general. Per aquest motiu, des del meu punt de vista, realitzar aquest tipus de treball enriqueix personalment perquè suposa, en el meu cas en concret, una immersió en el camp científic-mèdic que m'ajudarà molt quan entri de ple en l'estudi de la medicina.

Segonament, he centrat el meu treball concretament en l'hepatitis B perquè considero que és una de les malalties que provoca més morts. Per tant, davant d'aquesta desconeguda però cruel realitat, he cregut convenient, mitjançant el meu treball, atorgar-li la importància que es mereix. Actualment, la societat considera aquest tema, com tants d'altres semblants, com si fos un tabú, del qual ningú no en parla. D'aquí que, a mesura que he anat realitzant el meu treball, m'he adonat de la dificultat per trobar fonts d'informació segures i verídiques. També és complicat poder realitzar pràctiques relacionades amb el tema a causa de la seva perillositat. Tot i això, tots els meus esforços han servit per poder realitzar les pràctiques desitjades.

Finalment, per poder aplicar les pràctiques de laboratori que s'han esmentat anteriorment relacionades amb el tema, vaig contactar amb el cap de la unitat de malalties infeccioses de l'Hospital Carlos III que va facilitar-me l'accés al laboratori.

Objectius

Els objectius que em vaig proposar des d'un principi van ser: principalment, obtenir un aprenentatge mèdic bàsic; conèixer com és el camp de la medicina des d'un punt de vista professional, és a dir, descobrir de primera mà la professió de metge, que respecto i admiro; també adquirir els coneixements necessaris per poder entendre i saber explicar totes les tècniques científiques de l'hepatitis B; finalment; poder realitzar unes pràctiques de laboratori relacionades amb el tema.

Fonts d'informació i metodologia

Les meves principals fonts d'informació han estat els llibres d'hepatitis cedits pel Dr. Juan Maria González Lahoz, que m'han servit per veure les característiques generals de les diferents hepatitis, i a la vegada conèixer en profunditat com és l'hepatitis B, com actua i com es tracta, en pròpia persona.

Així doncs, la metodologia que he seguit ha estat partir del material bibliogràfic, la informació de les entrevistes, l'experiència viscuda durant les pràctiques per donar forma al treball. Així l'estructura del treball és la següent, que es divideix en dues parts: la primera consisteix en els conceptes previs relacionats amb el virus de l'hepatitis B, i la segona part es basa en el treball de camp, basat en una estada de dos dies a l'Hospital Carlos III de Madrid. Cal remarcar que tot el treball plantejat i realitzat prèviament abans d'accedir als laboratoris m'ha servit com a base fonamental i indispensable per tal de, posteriorment, poder entendre i aplicar al laboratori tots els coneixements adquirits.

A més a més, per facilitar la comprensió del treball, d'una banda, s'ha realitzat un glossari de termes mèdics on coincideix el número que té associada la paraula al peu de pàgina amb el número que té la mateixa paraula al glossari, i d'altra banda, la construcció d'un DVD que es va filmar al laboratori de l'hospital per veure directament tots els conceptes que s'expliquen en l'apartat 8 del treball.

Per acabar, espero que gaudeixin de la lectura del treball, tal i com jo he gaudit durant la seva elaboració.

1. ORIGEN DE L'HEPATITIS I ELS SEUS PRIMERS ESTUDIS

No està gens clar l'origen evolutiu del primer virus de l'hepatitis. Encara que la primera descripció d'una epidèmia de virus de l'hepatitis (VH) no va tenir lloc fins a final del segle passat, això suggereix que la divergència dels **genotips virals**¹ poden ser un reflex de la migració de les poblacions humanes dels últims 100.000 anys. A més a més, es creu que en textos antics, com la Bíblia, les malalties (generalment **icterícia**²) podrien haver estat causats per infeccions del virus de l'hepatitis.

Tanmateix, el seu origen també és insinuat per la presència de VH en ximpanzés i en **gibons**³, tots dos dins del grup dels primats conegut en l'**arbre filogenètic**⁴. Per aquest motiu, la identificació d'aquests virus ha obert la possibilitat d'un origen anterior als grans **simis**⁵.

Fins avui, hi ha hagut alguns intents per trobar definitivament la teoria de l'origen del virus de l'hepatitis. Un mitjà podria ser datar l'evolució del VH utilitzant **dades de seqüències**⁶. L'anàlisi més citat d'aquest tipus proposa la divergència del VH dels **hepadnavirus**⁷ d'animals d'aproximadament fa 10.000 anys.

L'origen històric de l'evolució dels conceptes va ser narrat a la revista de l'Associació Mèdica Americana (JAMA) per Mackay, qui informà del terme "hepatitis crònica activa", en estudiar una epidèmia d'hepatitis viral que afectava soldats pel Mediterrani l'any 1943.

A la dècada dels 50, el terme "hepatitis crònica activa" es va aplicar per descriure un nou síndrome que comprometia dones joves que tenien un curs de desenvolupament progressiu d'hepatitis, sovint una hepatitis fulminant associada a alteracions immunològiques i endocrines. Posteriorment, Mackay i Gajdusek al 1958 van començar els estudis experimentals i van plantejar l'origen de l'**hepatitis lupoide**⁸ com una reacció autoimmune en

¹ Genotip viral

² Icterícia

³ Gibó

⁴ Arbre filogenètic

⁵ Simi

⁶ Dades de seqüències

⁷ Hepadnavirus

⁸ Hepatitis lupoide

descriure els **anticossos anti-citoplasmàtics**⁹ tenint en compte els conceptes de Joske i King al 1955 sobre la relació entre la **cèl·lula LE**¹⁰ i les hepatitis virals cròniques.

Mackay, Weiden i Hasken al 1965 van descriure la naturalesa autoimmune en la patogènesis de l'hepatitis activa crònica a l'article titulat "*Hepatitis autoimmune*".

A la dècada dels 80, Mackay va començar a definir els criteris clínics i de laboratori per la malaltia:

- Més freqüent en dones.
- L'edat (des dels 10 anys als 30) i també passats els 50 anys.
- Racial: és més freqüent a la zona euro-asiàtica.
- Compromís multisistèmic.
- **Histopatologia necrosis periportal**¹¹.
- Zeronegativitat per hepatitis B i C i per altres tipus d'hepatitis.
- **Hipergammaglobulinèmia**¹².
- Anticossos.
- Associació al **HLA-B8**¹³, **HLA-DR3**¹⁴.
- Resposta al tractament amb **esteroides**¹⁵.

⁹ Anticòs anti-citoplasmàtic

¹⁰ Cèl·lula LE

¹¹ Histopatologia necrosis periportal

¹² Hipergammaglobulinèmia

¹³ HLA-B8

¹⁴ HLA-DR3

¹⁵ Esteroides

- Manca del **carcinoma hepatocel·lular**¹⁶ que s'associa a les hepatitis virals.

Però el curs d'aquesta malaltia va canviar irrevocablement gràcies a la convergència d'un investigador-metge que tenia curiositat per saber per què algunes persones eren especialment propenses a diverses malalties i d'un altre investigador-metge que es va preguntar per què moltes persones es posaven malaltes després de rebre transfusions de sang.

Aquesta confluència va comportar un descobriment que, en menys d'una dècada, va promoure una campanya d'anàlisi de sang que va reduir exponencialment la incidència d'hepatitis propagada per les transfusions de sang. El descobriment també va fer que s'hi busqués una vacuna adequada, que no tan sols va suposar una nova forma de protegir les persones davant les malalties infeccioses, sinó que també va ser la primera vacuna eficaç contra el càncer de fetge. No obstant això, els científics, que estaven realitzant una tasca que revolucionaria l'estudi de l'hepatitis, en un inici no havien ni pensat en aquesta malaltia.

¹⁶ Carcinoma hepatocel·lular

2. ANATOMIA DEL FETGE

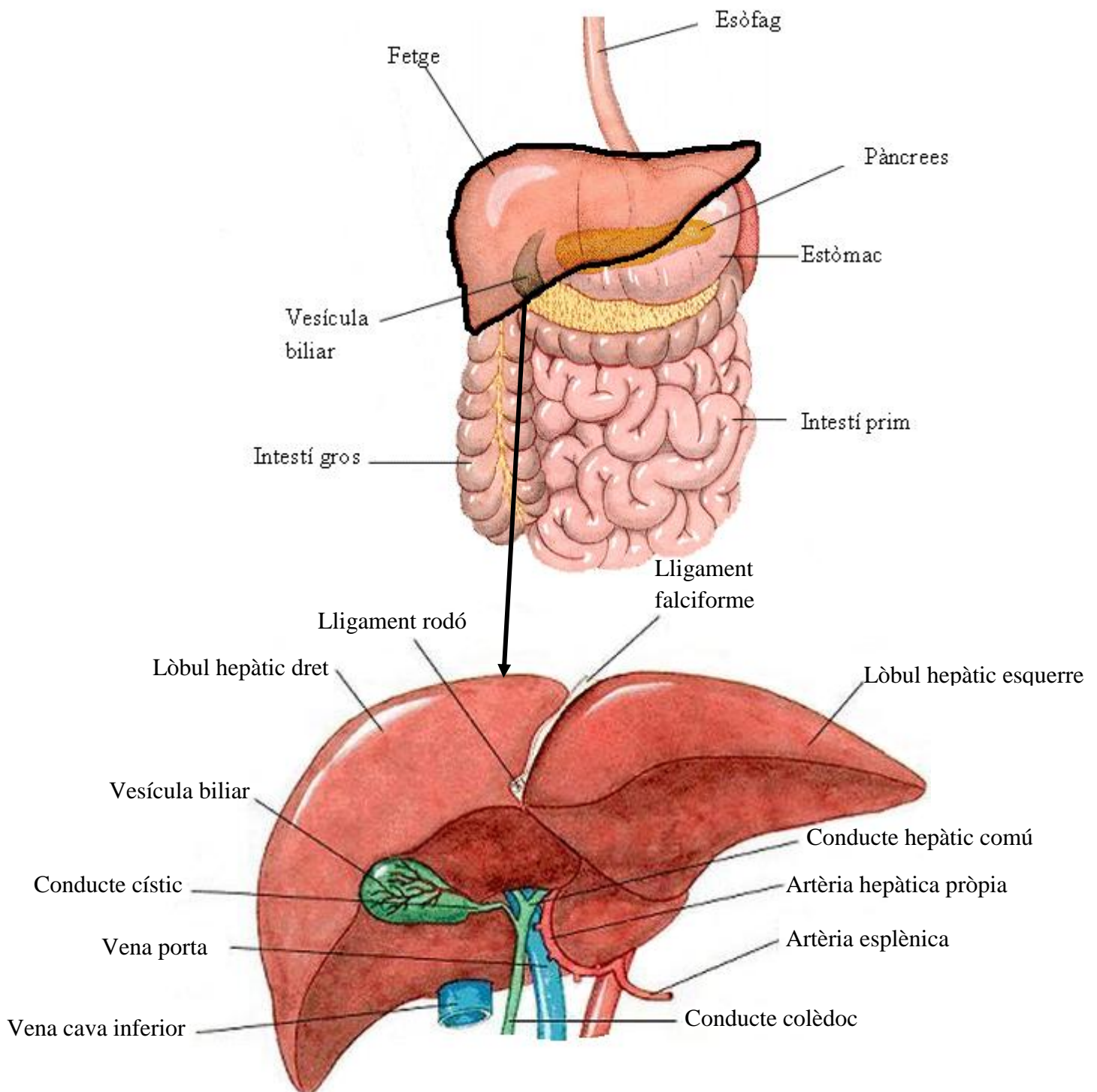


Fig. 1 Localització del fetge i les seves parts

El fetge és l'òrgan més voluminós de l'organisme humà i, al mateix temps, la glàndula més important pel que fa l'activitat metabòlica de l'organisme, ja que, és el lloc on es realitzen la gran majoria de les reaccions químiques de l'organisme. Està situat a la part superior dreta de

la cavitat abdominal, pesa més o menys 1,5 kg, depenent de l'edat de la persona, i és de color vermell fosc.

El fetge té la particularitat de rebre sang per dues vies sanguínies: l'artèria hepàtica, que transporta sang oxigenada que ve del cor, i la vena porta, que transporta substàncies nutritives des de l'estómac i els intestins. El motiu pel qual rep sang per la vena porta és perquè és una de les vies per on es transporta més sang procedents de l'intestí, així doncs, si la vena porta passa posteriorment pel fetge, l'organisme s'assegura que els aliments absorbits vagin directament al fetge per ser emmagatzemats.

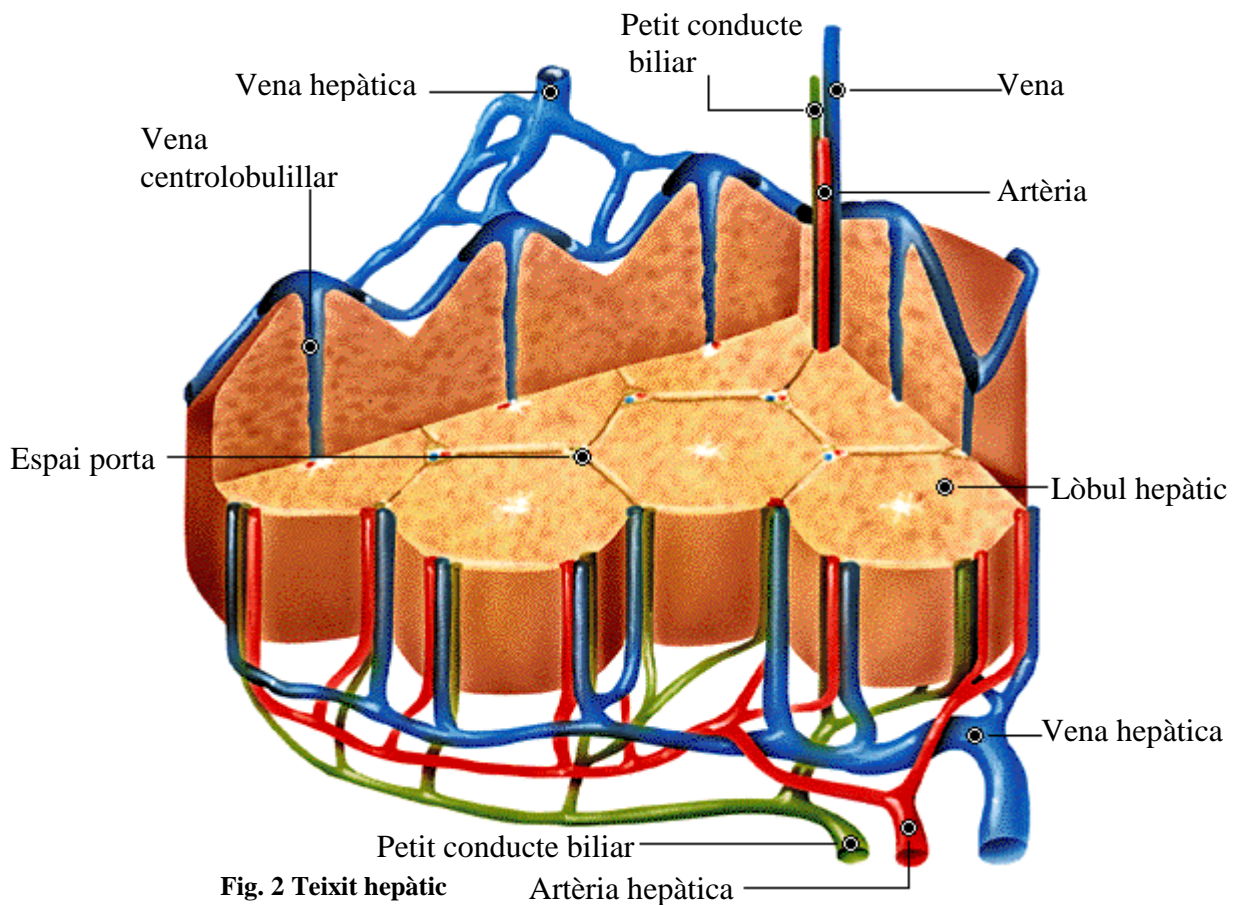
Aquests vasos sanguinis penetren el teixit hepàtic i es divideixen fins arribar a formar capil·lars molt petits. Un cop la sang ha passat per aquests capil·lars, la sang es recull en unes venes, anomenades venes hepàtiques, que es van unint per formar-ne una de sola. Posteriorment, la sang anirà directament al cor perquè torni a ser oxigenada pels pulmons.

La sang que travessa el fetge viatja a una velocitat de 1,4 litres per minut. Això fa que el fetge sempre tingui un 10% de tota la sang del cos. A més a més, també conté sang procedent del pàncrees. Les cèl·lules del fetge ajuden a la sang a assimilar les substàncies nutritives, com per exemple, els **estrògens**¹⁷ i les **hormones**¹⁸, i a excretar els materials de rebuig i tot tipus de substàncies estranyes i perjudicials per l'organisme en general.

¹⁷ Estrogen

¹⁸ Hormona

2.1 Histologia hepàtica



El teixit hepàtic és un teixit estable. Es caracteritza per tenir una gran capacitat regenerativa sempre que aquest teixit rebi estímuls externs (principalment són estímuls causats per un desenvolupament d'un **tumor**¹⁹ o per una lesió).

El teixit hepàtic està format per:

- **Lòbuls hepàtics:** estan formats per columnes de cèl·lules hepàtiques disposades de forma radial al voltant de la vena centrolobulillar. Estan envoltades per canals molt petits on s'hi diposita la **bilis**²⁰, creada per les cèl·lules hepàtiques.
- **Espai porta:** són zones triangulars situades en els angles dels lòbuls hepàtics. Cadascun d'aquests espais conté un conducte biliar, una petita vena porta i una petita artèria hepàtica.

¹⁹ Tumor

²⁰ Bilis

- **Cèl·lules hepàtiques:** són aquelles cèl·lules encarregades de sintetitzar la bilis. Constitueixen el 80% de la població cel·lular del teixit hepàtic. Aquestes cèl·lules es caracteritzen per tenir la presència de múltiples orgànuls, per aquest motiu tenen la capacitat de realitzar una gran quantitat de funcions, com per exemple: sintetitzar **fibrinogen**²¹ i **lipoproteïnes**²², el metabolisme dels glúcids, la formació de la bilis, etc. També delimita, amb les membranes plasmàtiques (a partir de dues cèl·lules hepàtiques), un petit canal on serà sintetitzada la bilis.
- **Sinusoides hepàtics:** són capil·lars que es disposen entre les làmines de les cèl·lules hepàtiques i on conflueixen. La paret dels sinusoides es caracteritza per estar formada per una capa discontinua de **cèl·lules endotelials**²³ que no tenen **membrana basal**²⁴. Als sinusoides conflueixen la circulació hepàtica i la porta.
- **Espai de Disse:** és un estret espai que es troba entre la paret de sinusoides i les làmines de cèl·lules hepàtiques. En l'espai de Disse es produeix l'intercanvi metabòlic entre les cèl·lules hepàtiques i el plasma. A més a més, en aquest espai també podem trobar cèl·lules emmagatzemadores de lípids.

2.2 Fisiologia hepàtica

La funció del fetge engloba moltes reaccions i processos de vital importància per l'organisme, fins a tal punt que es pot arribar a afirmar que el fetge és el laboratori del cos humà.

Les funcions que realitza són:

- S'encarrega de la producció de la bilis que, posteriorment, arribarà al **duodè**²⁵ mitjançant la **via biliar**²⁶.

²¹ Fibrinogen

²² Lipoproteïna

²³ Cèl·lula endotelial

²⁴ Membrana basal

²⁵ Duodè

²⁶ Via biliar

- S'ocupa del metabolisme dels hidrats de carboni. El fetge realitza el metabolisme dels hidrats de carboni en tres fases:
 - Gluconeogènesi: consisteix en la formació de **glucosa**²⁷ mitjançant un determinats **aminoàcids**²⁸, **lactats**²⁹ i **glicerol**³⁰.
 - Glicogenòlisi: consisteix en la fragmentació de **glicogen**³¹ per treure la glucosa de la sang.
 - Glucogenogènesi: és la síntesi de glicogen a partir de la glucosa.
- Emmagatzemar glicogen, ferro, coure i algunes vitamines (concretament guarda vitamina A, vitamina B i vitamina D).
- Eliminar **insulina**³² i altres hormones.
- S'ocupa també del metabolisme dels lípids, concretament, s'encarrega de la síntesi del **colesterol**³³ i la producció de **triglicèrids**³⁴.
- Sintetitzar proteïnes, com per exemple l'**albúmina**³⁵ i les lipoproteïnes.
- Sintetitzar substàncies que intervenen en la coagulació de la sang, com per exemple l'**heparina**³⁶, la **protrombina**³⁷, el fibrinogen, etc.

²⁷ Glucosa

²⁸ Aminoàcids

²⁹ Lactats

³⁰ Glicerol

³¹ Glicogen

³² Insulina

³³ Colesterol

³⁴ Triglicèrids

³⁵ Albúmina

³⁶ Heparina

³⁷ Protrombina

- Desintoxicació de la sang, concretament, s'ocupa de neutralitzar les **toxines**³⁸ que pot arribar a tenir la sang; això ho fa a partir d'unes cèl·lules especials que es troben al fetge.
- Transformació de l'**amoni**³⁹ en urea.

El fetge també realitza la producció de glòbuls vermells per al fetus durant els tres primers mesos de l'embaràs. Després d'aquests tres mesos, aquesta funció la realitza la medul·la òssia.

3. TIPOLOGIA I EPIDEMIOLOGIA DE LES HEPATITIS VÍRIQUES

L'hepatitis vírica és una malaltia infecciosa del fetge causada per diferents virus i caracteritzada per **necrosi hepatocel·lular**⁴⁰ i inflamació. El quadre clínic i les lesions histològiques causades pels diferents agents etiològics són pràcticament idèntics, encara que existeixen algunes diferències en el període d'incubació i en l'evolució i, sobretot, en la presència de sang d'antígens vírics i d'anticossos dirigits en contra.

En l'actualitat es coneixen set tipus d'hepatitis víriques: hepatitis A (VHA), hepatitis B (VHB), hepatitis C (VHC), hepatitis D (VHD), hepatitis E (VHE), hepatitis G (VHG) i hepatitis TT (VTT). Les hepatitis B, C i D es propaguen preferentment per **via parenteral**⁴¹ i poden donar lloc a hepatitis, aguda o crònica, mentre que les hepatitis A i E són de **transmissió entèrica**⁴² i produeixen hepatitis aguda sense que s'hagin diagnosticat casos d'hepatitis crònica.

³⁸ Toxina

³⁹ Amoni

⁴⁰ Necrosis hepatocel·lular

⁴¹ Via parenteral

⁴² Transmissió entèrica

També existeixen altres virus que poden afectar el fetge i causar, en ocasions, manifestacions d'hepatitis (**virus d'Epstein-Barr**⁴³, **citomegalovirus**⁴⁴...) encara que aquests tipus de virus afecten principalment altres òrgans.

3.1 Hepatitis A

L'hepatitis A és un virus petit (27-32 nanòmetres) amb simetria icosaèdrica i sense coberta. El virus es compon d'una molècula de RNA de cadena senzilla amb 7.500 nucleòtids, aproximadament, i polaritat positiva. El genoma de l'hepatitis A es pot dividir en 3 regions: dues no codificades i un marc de lectura oberta que codifica proteïnes estructurals i no estructurals.

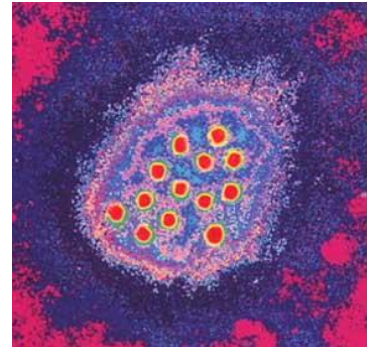


Fig. 3 Virions d'hepatitis A

S'hi ha descrit un sol **serotip**⁴⁵ i 4 **genotips**⁴⁶ en humans.

3.1.1 Epidemiologia

La infecció per hepatitis A, que és la causant del 20-25% de les hepatitis clíniques en tot el món, afecta generalment persones entre 5 i 30 anys. L'hepatitis A és **endèmica**⁴⁷ en quasi tot el món i una de les característiques de la malaltia és que presenta en forma d'epidèmia o brots aïllats.

La malaltia es transmet per **via fecal-oral**⁴⁸, ja sigui per contacte persona a persona o per contaminació d'aigua o aliments amb matèries fecals que contenen virus. Aquest virus és molt resistent a les condicions ambientals, ja que, durant mesos pot estar estable. No existeix cap evidència de **transmissió vertical**⁴⁹.

⁴³ Virus de Epstein-Barr

⁴⁴ Citomegalovirus

⁴⁵ Serotip

⁴⁶ Genotips

⁴⁷ Endèmica

⁴⁸ Via fecal-oral

⁴⁹ Transmissió vertical

Podem classificar tres llocs de prevalença: el primer, s'observa sobretot en països en vies de desenvolupament (Àfrica, Àsia, Amèrica Central i del Sud) on l'exposició apareix abundantment durant la infància perquè la població adulta ja n'està immunitzada; el segon, s'observa en països amb una millora de les condicions higièniques-sanitàries (sud i est d'Europa); el tercer, s'observa en països desenvolupats amb un alt nivell higiènic-sanitari (nord i oest d'Europa, Japó i Estats Units) on la infecció és estranya i la majoria dels casos són importats de viatgers o immigrants.

3.2 Hepatitis B

Uns 2.000 milions de persones, dels quals 400 milions en tenen infecció crònica en tot el món, estan infectades pel virus de l'hepatitis B. És un virus de 42 nanòmetres que pertany a una nova categoria de virus animals anomenat *Hepadnavirus*. El DNA és circular, rodejat per una **nucleocàpsida**⁵⁰, i parcialment de doble cadena, ja que conté 4 fragments de lectura oberts, cadascun dels quals codifica la síntesi d'una proteïna viral diferent.

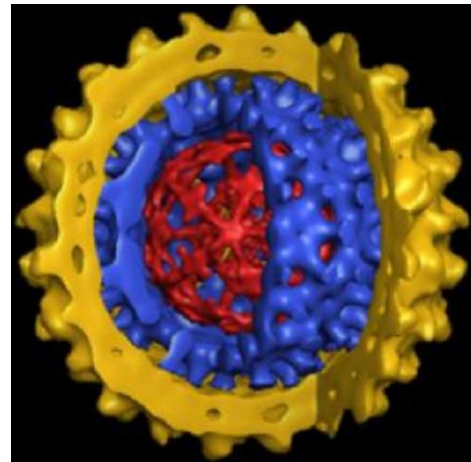


Fig. 4 Estructura del virus d'hepatitis B

S'hi classifiquen 9 serotips i 8 genotips (A-H) que tenen una prevalença geogràfica diferent.

3.2.1 Epidemiologia

La distribució geogràfica de l'hepatitis B és mundial. La infecció apareix més freqüentment de forma esporàdica que epidèmica.

La transmissió de l'hepatitis B es produeix fonamentalment per **via parenteral**⁵¹ i per via sexual. També és possible per contacte familiar i per via vertical. Les persones més exposades a contraure una hepatitis B són els drogoaddictes, el personal sanitari, els pacients hemodialitzats, les persones sexualment promíscues i les persones que conviuen amb algú infectat amb hepatitis B crònica.

⁵⁰ Nucleocàpsida

⁵¹ Via parenteral

S'hi distingeixen tres àrees de prevalença:

- Zones de prevalença baixa (0,1-2%): Europa Occidental, Estats Units, Canadà i Austràlia. Hi predomina la transmissió sexual o per drogoaddictes.
- Zones de prevalença intermèdia (3-5%): Països del Mediterrani, Japó, Àsia Central, Orient Mig i Amèrica del Sud. Hi predomina la transmissió horitzontal.
- Zones de prevalença alta (10-20%): el Sud-est Asiàtic, Xina i l'Àfrica Subsahariana. Hi predomina la transmissió vertical.

3.3 Hepatitis C

És un virus que es transmet per via parenteral, de 50-60 nanòmetres de diàmetre, amb un embolcall lipídic i amb un genoma de RNA constituït per uns 10.000 nucleòtids. El seu RNA codifica una proteïna de la qual se'n deriven les proteïnes estructurals i les no estructurals.



L'hepatitis C es classifica en 6 genotips (1-6) que a la vegada es divideixen en subtipus. Els genotips 1, 2 i 3 es poden trobar per tot el món, mentre que la resta se situen en zones geogràfiques específiques.

3.3.1 Epidemiologia

La infecció per hepatitis C està expandida per tot el món. La seva via principal de contagi és la parenteral mitjançant transfusions de sang contaminada i per l'ús de xeringues contaminades. Però, també podem trobar casos d'infecció per via sexual i vertical, però són casos molt reduïts.

Els grups de risc d'aquesta infecció són: evidentment, els consumidors de drogues, personal sanitari, pacients en hemodiàlisi i amb requeriments de sang, persones sexualment

promíscues, receptors de transfusions abans del 1992 i mares embarassades infectades pel virus.

Es poden classificar tres perfils de transmissió:

- Persones entre 30 i 49 anys que són consumidores de drogues.
- Ancians que han estat infectats fa molt de temps.
- Societats subdesenvolupades on la infecció es troba en taxes altes en tots els grups d'edat.

3.4 Hepatitis D

Es tracta d'un virus infecció defectiu que requereix la presència simultània d'un *Hepadnavirus* per ser infecció, és a dir, necessita la col·laboració d'un altre virus per poder actuar. La forma del virus és esfèrica de 35-37 nanòmetres, on l'interior apareix l'**antigen**⁵² delta i el RNA.

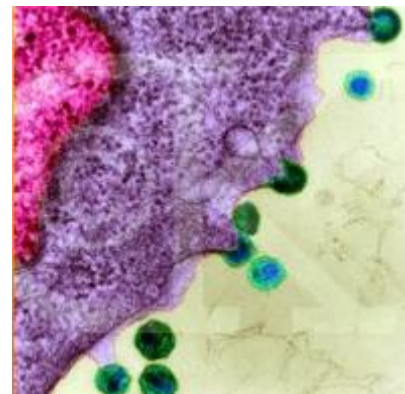


Fig. 6 Virions d'hepatitis D

Es distingeixen 3 genotips a l'hepatitis D, on el genotip 1 predomina sobretot a Espanya i a Itàlia.

3.4.1 Epidemiologia

La seva distribució geogràfica és molt variada. Les vies de transmissió evidentment són similars a l'hepatitis B: parenteral i, en segon lloc, la sexual. Però també apareixen altres vies poc freqüents com la familiar o la vertical.

A causa de la necessitat per la seva replicació, existeixen dues formes d'infecció de l'hepatitis D:

⁵² Antigen

- Coinfecció d'hepatitis B i hepatitis D.
- Sobreinfecció d'hepatitis D en un pacient prèviament infectat amb hepatitis B.

Tot i això, les millores de les condicions generals de salut, la vacunació contra la hepatitis B i el control de propagació del VIH han produït un descens del nombre de portadors, per tant, la disminució de l'hepatitis D.

3.5 Hepatitis E

Consisteix en un virus de forma esfèrica, de 32-34 nanòmetres, caracteritzat per no tenir coberta. És un virus RNA monocatenari de polaritat positiva, que s'organitza en tres regions de lectura oberta.

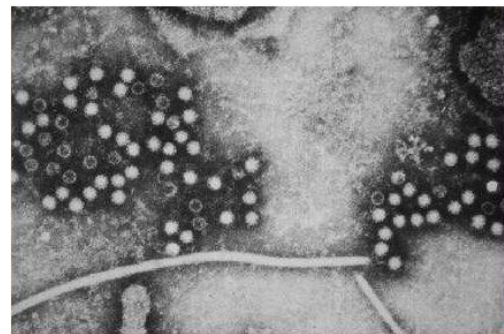


Fig. 7 Virions d'hepatitis E

A l'hepatitis E es poden distingir 4 genotips i només un serotip.

3.5.1 Epidemiologia

Aquest virus es caracteritza per ser autolimitat. Es transmet per via fecal-oral mitjançant aliments contaminats o per beure aigua contaminada. La transmissió sexual i de persona a persona és molt estranya, però la transmissió vertical pot ser el motiu de la infecció, però és poc freqüent.

Els grups de risc que pertanyen a aquesta malaltia són els nens (que arriben a desenvolupar una hepatitis esporàdica aguda), les dones embarassades (col·lectiu entre el qual hi ha una alta mortalitat) i en adults joves (que desenvolupen una hepatitis E crònica simptomàtica)

La prevalença geogràfica d'infecció es troba al sud-est i centre d'Àsia, i també s'observen brots a l'Orient Mitjà, parts del nord i l'occident d'Àfrica i a Mèxic. A la resta del món, la infecció és molt poc freqüent.

3.6 Hepatitis G

El virus de l'hepatitis G és molt similar a altres virus pertanyents a la família *Flaviviridae*. El seu genoma consisteix en una sola cadena de RNA d'uns 9.000 nucleòtids de polaritat positiva.

Existeixen 5 genotips d'aquest virus que estan associats a zones geogràfiques concretes.

3.6.1 Epidemiologia

L'hepatitis G ha estat localitzada entre població sana de diversos països. La seva ruta de transmissió més usual és la parenteral, però també s'han trobat infeccions d'aquest virus per via sexual i vertical.

A més a més, aquest virus té la peculiaritat de presentar-se en molts casos amb coinfecció amb hepatitis B o amb hepatitis C, per tant, és evident que els grups de risc que corresponen a aquest virus són els usuaris de drogues i qui rep sovint transfusions de sang.

Tot i això, aquest virus, per causes desconegudes, no té una funció maligne contra el fetge.

3.7 Hepatitis TT

És un virus sense coberta de DNA d'una sola cadena i amb polaritat negativa.

Tan sols s'hi distingeixen dos genotips.

3.7.1 Epidemiologia

La hepatitis TT es caracteritza per no tenir una zona geogràfica de prevalença concreta, ja que tant s'ha pogut trobar en persones sanes com en pacients amb una malaltia hepàtica crònica. La seva forma de transmissió és la parenteral i la fecal-oral.

Com el virus de la hepatitis G, aquest virus tampoc té la capacitat de desenvolupar cap malaltia al fetge.

4. L'HEPATITIS B

L'hepatitis B és una malaltia hepàtica causada pel virus de l'hepatitis B (VHB), el primer de tots que es va identificar. Provoca una malaltia que afecta a 400 milions de persones al món, i s'estima que és responsable d'entre 250.000 i 500.000 morts cada any.

El virus de l'hepatitis B és un petit virus que pertany a la família *Hepadnaviridae*, format per una partícula esfèrica de 42 nanòmetres de diàmetre, i envoltat per una coberta lipídica on s'hi troba la proteïna antigen de superfície (**HBsAg**⁵³).

El genoma d'aquest virus està format per una molècula de DNA caracteritzada per tenir una part amb doble cadena i una altra part d'una sola cadena. Aquest genoma normalment es presenta en formació circular, a causa de forces febles provocades per complementarietat. Així doncs, el genoma d'aquest virus es pot dividir en quatre parts segons el tipus de proteïna que es pot codificar:

- La proteïna que forma l'embolcall (HBsAg).
- La proteïna que forma la càpsida viral.
- Les proteïnes no estructurals.
- La proteïna que forma la polimerasa viral.

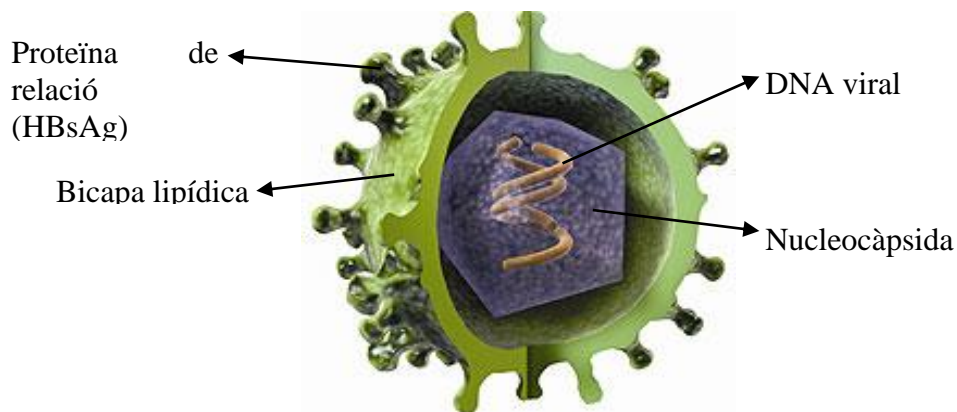


Fig. 8 Estructura i parts del VHB

⁵³ HbsAg

4.1 Replicació viral: el cicle lític

El cicle lític es defineix com el procés que comença amb la infecció d'una cèl·lula, fins que aquesta cèl·lula explota donant lloc a nous virus que infectaran altres cèl·lules.

Així doncs, quan el virus de l'hepatitis B comença el seu cicle lític, la seva bicapa lipídica es fusiona amb la bicapa lipídica de la cèl·lula hepàtica, de manera que es lliura al citosol de la cèl·lula la nucleocàpsida. Aquesta es dirigirà al nucli de la cèl·lula, on hi deixarà anar el seu DNA viral, que a partir d'ara formarà part de l'estructura nucleica de la cèl·lula, de manera que, quan aquesta cèl·lula vulgui crear una proteïna determinada, el seu DNA (on s'inclou també el DNA viral adherit) es transformarà en **RNA missatger**⁵⁴ (transcripció) mitjançant uns enzims concrets. Posteriorment un **ribosoma**⁵⁵ llegirà aquest RNA missatger per crear la cadena d'aminoàcids amb l'objectiu d'obtenir la proteïna específica, però a causa de la infecció del material genètic, en realitat s'està obtenint les proteïnes que formaran la nucleocàpsida viral i també altres proteïnes, com per exemple la polimerasa. A més a més, aquest RNA que el ribosoma ha llegit anteriorment, com que és una còpia del material genètic viral, s'aprofita per introduir-lo dins de la nucleocàpsida que s'està fabricant. Un cop formada aquesta nucleocàpsida amb el RNA viral, aquest es transformarà en DNA viral mitjançant la transcripció inversa. Un cop fet això, la nucleocàpsida segueix dos passos: el primer consisteix en traslladar-se al nucli per obtenir un major nombre de còpies de DNA viral i el segon és passar pel **reticle endoplasmàtic rugós**⁵⁶ per obtenir la bicapa lipídica.

⁵⁴ RNA missatger

⁵⁵ Ribosoma

⁵⁶ Reticle endoplasmàtic rugós

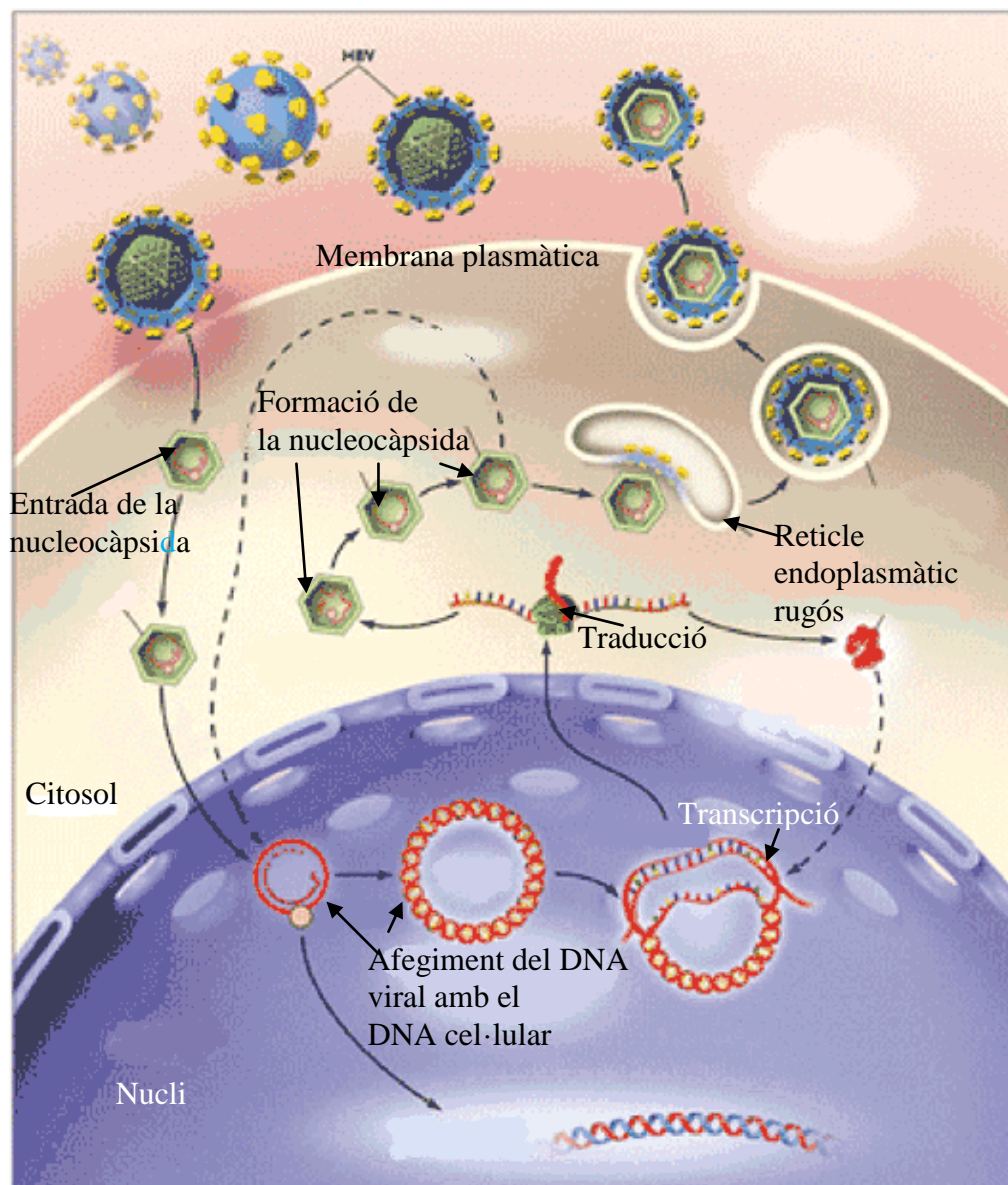


Fig. 9 Cicle replicatiu del VHB

4.2 La variabilitat genètica i els genotips

A l'hora d'estudiar els diferents genotips que es coneixen actualment sobre el virus de l'hepatitis B, la diferència aproximada de la seva seqüència nucleica entre tots els genotips és del 8 % . Per tant, això significa que aquesta diferència seqüencial, al mateix temps, establirà una diferència amb la replicació, amb la sensibilitat amb els fàrmacs,... entre els diferents genotips d'aquest virus.

En l'actualitat, existeixen 8 genotips del virus de l'hepatitis B, que són determinats des de la lletra A fins a la H. Cal destacar que aquests genotips presenten una distribució geogràfica diferent, n'és un exemple el genotip D, que està molt present als països del sud d'Europa.

4.3 Les mutacions al genoma del virus de l'hepatitis B

El virus de l'hepatitis B es caracteritza per ser un virus que realitza freqüentment mutacions al seu genoma si el comparem amb altres virus. Aquestes mutacions afecten directament a la **patogènesi**⁵⁷, la resistència als fàrmacs i la presència viral a l'organisme.

Cal esmentar que aquest virus pot canviar el seu genoma quan està en fase de replicació fins a donar lloc a noves variacions del virus. Això suposa que la població del virus B a l'organisme no és el mateix sempre, sinó que a causa de les mutacions que s'originen en el propi virus poden fer que n'augmenti o en disminueixi la presència en el pacient.

A més a més, quan aquest virus entra en contacte amb un nou fàrmac, el virus automàticament pot realitzar un conjunt de mutacions al seu genoma que li serviran per fabricar els anticossos neutralitzants que tindran la funció d'inhibir l'acció del fàrmac específic; és el que s'anomena mutació de resistència.

5. SÍMPTOMES QUE PROVOCA L'HEPATITIS B

Els símptomes que provoca el virus de l'hepatitis B solen aparèixer normalment de 9 a 21 setmanes, una vegada l'organisme hagi quedat exposat al virus. Els símptomes més habituals són:

- Orina de color fosc.
- Pell de color groc.
- El blanc dels ulls queda amb una tonalitat groguenca (el que es coneix com icterícia).
- Dolor a l'estómac.

⁵⁷ Patogènesi

- Pèrdua de pes.
- Cansament freqüent.
- Vòmits i nàusees.
- Pèrdua de la gana.
- Dolor a les articulacions.
- Femta argilènca.

A partir d'aquí, aquests símptomes poden variar de lleus fins a molt greus depenent de molts factors, com el sexe, l'edat, el desenvolupament del virus, etc.

Cal destacar també que la majoria dels nens i el 25-30% dels adults que tenen el virus dins del seu organisme, normalment desenvolupen una malaltia crònica asimptomàtica; això suposa que, encara que no pateixin els símptomes que provoca el virus, poden arribar a contagiar altres persones, amb la possibilitat que n'obtinguin una malaltia crònica simptomàtica. A més a més, també cal dir que com més edat tingui l'individu infectat, més probabilitats té de desenvolupar una malaltia crònica simptomàtica.

6. TRACTAMENT

Existeixen dos tipus de tractament per a l'hepatitis B: el tractament de l'hepatitis B aguda i el tractament de l'hepatitis B crònica.

6.1 Tractament de l'hepatitis B aguda

L'hepatitis B aguda no requereix un tractament específic, ja que el 95% dels pacients es recuperen espontàniament. Només cal tenir en compte el possible contacte que hi hagi pogut haver amb les persones properes al pacient (aquest tipus d'hepatitis és altament contagiosa) i vacunar el pacient d'hepatitis B, si encara no n'està.

6.2 Tractament de l'hepatitis B crònica

Les persones que desenvolupen hepatitis B crònica han de ser avaluades per un metge especialitzat en malalties dels sistema digestiu (en aquest cas, un hepatòleg o un **gastroenteròleg**⁵⁸). Les decisions del tractament són individuals, és a dir, cada cas és totalment diferent l'un de l'altre.

6.2.1 Objectius

El principal objectiu que té el tractament és la supressió de la replicació del VHB d'una forma persistent, ja que això provoca una millora histològica i un menor risc de progrés de la malaltia. Aquesta progressió es posa de manifest gràcies a la normalització dels valors de les **transaminases**⁵⁹, pel ADN-VHB inferior a 2.000 UI/mL determinat pel **PCR**⁶⁰ en temps real.

6.2.2 Selecció dels pacients

Han de rebre tractament:

- Pacients amb hepatitis crònica VHB moderada o greu (és a dir, aquells infectats que presentin activitat inflamatòria associada a **fibrosis**⁶¹ demostrada en una biòpsia hepàtica amb una inflamació greu-moderada i/o i **septes fibrosos**⁶²).
- Malaltia hepàtica descompensada, en col·laboració amb una unitat de trasplantament hepàtic.
- Pacients amb hepatitis crònica i que reben **immunodepressors**⁶³ per altres causes, ja que el VHB pot arribar a reactivar-se.

⁵⁸ Gastroenteròleg

⁵⁹ Transaminases

⁶⁰ PCR

⁶¹ Fibrosis

⁶² Septes fibrosos

⁶³ Immunodepressors

També es pot oferir el tractament a pacients amb transaminases normals i ADN-VHB més gran o igual a 2.000 UI/mL i lesions hepàtiques greus.

6.2.3 Tipologia de fàrmacs pel tractament de l'hepatitis B

6.2.3.1 Interferó-alfa:

En el cas que el virus provoqui una alta activitat inflamatòria i presència d'HBeAg positiu amb genotip A o B, el millor tractament és la utilització de l'Interferó-alfa durant 48 setmanes. A més a més, també es recomana que s'utilitzi en pacients HBeAg negatiu, ja que aquest fàrmac també ha demostrat beneficis en aquests casos.

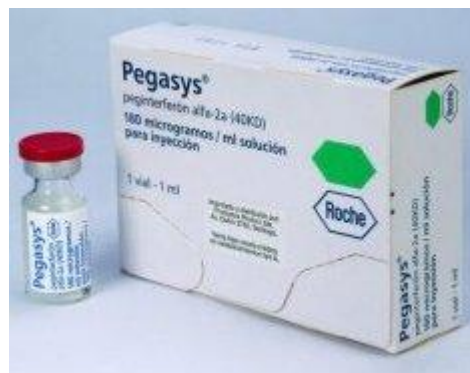


Fig. 10 Interferó-alfa

6.2.3.2 Lamivudina:



Fig. 11 Lamivudina

La lamivudina (LAM) és el primer anàleg de nucleòsid oral que inhibeix la síntesi de l'ADN-VHB gràcies a la seva activitat sobre la **transcriptasa inversa**⁶⁴ vírica. Es caracteritza per presentar una bona absorció oral, manca d'interaccions amb altres fàrmacs i una bona tolerabilitat, ja que presenta molts pocs efectes secundaris. S'administra a dosis de 100 mg/dia per via oral, i la duració del tractament es prolonga fins als sis mesos després de la **seroconversió del HBeAg**⁶⁵. Si abans de la seroconversió es retira el subministrament de la Lamivudina, es pot arribar a desencadenar una **exacerbació aguda**⁶⁶ de l'hepatitis B. La

Lamivudina té l'inconvenient que, com més durí el tractament, més possibilitats d'aparició de resistències i, conseqüentment, aparició, un altre cop, de la replicació vírica.

⁶⁴ Transcriptasa inversa

⁶⁵ Seroconversió del HBeAg

⁶⁶ Exacerbació aguda

6.2.3.3 Adefovir:

S'administra en dosis de 10 mg/dia per via oral. Presenta molt bona tolerabilitat, amb escassetat d'efectes secundaris, s'hi n'hi ha són generalment lleus: **astènia**⁶⁷, **cefalea**⁶⁸ o dolor abdominal. La dosi de 10 mg/dia no ha mostrat **nefrotoxicitat**⁶⁹ en els diferents assaigs, i sembla segura en individus amb una malaltia hepàtica descompensada. És eficaç en pacients verges de tractament i en aquells resistents a la lamivudina.



Fig. 12 Adefovir

Presenta menys índex de resistències, però existeixen casos de tractament amb Adefovir de tres anys de durada on hi ha aparegut resistències.

6.2.3.4 Entecavir:

S'administra en dosis de 0,5 ó 1 mg/dia per via oral. Es caracteritza per estar ben tolerat, amb una freqüència d'efectes adversos similars a la lamivudina. És un potent inhibidor de la replicació del VHB salvatge, però en pacients resistents a la lamivudina la susceptibilitat és menor. Té una alta barrera genètica; en pacients verges de tractament, la probabilitat de pèrdua de control virològic per resistències després de quatre anys de tractament amb Entecavir és menor a l'1%.



Fig. 13 Entecavir

6.2.4 Tractament de l'hepatitis crònica B amb coinfecció de VIH

El tractament de l'hepatitis crònica B presenta problemes específics en presència d'infecció per VIH, ja que els tractaments terapèutics s'han de realitzar tenint en compte el control de les dues infeccions. A més a més, l'activitat antiviral dual davant al VIH i al VHB que presenten alguns fàrmacs, com el Tenofovir i la Lamivudina, amplia les possibilitats de realitzar un tractament potent i específic per les dues infeccions al mateix temps.

⁶⁷ Astènia

⁶⁸ Cefalea

⁶⁹ Nefrotoxicitat

En pacients coinfectats de VHB i VIH sense indicació immediata de tractament pel VIH, la decisió d'iniciar teràpia davant al VHB s'ha de prendre després de l'evidència d'estar davant d'una malaltia activa i progressiva. En aquest cas, encara que Interferó-alfa o Adefovir puguin utilitzar-se en monoteràpia per VHB, la tendència actual és tractar les dues infeccions simultàniament. En cas contrari, la millor actitud en el moment actual és monitoritzar els pacients sense prendre cap actitud terapèutica.

6.2.4.1 Taula-resum del tractament d'hepatitis crònica B

Indicació del tractament	Serologia HBe	Règim preferit	Evitar
Només VHB	HBeAg +	Interferó-alfa, Adefovir	Lamivudina, Emtricitabina, Tenofovir
Només VIH	HBeAg + i - ADN-VHB < 10 ⁵ ADN-VHB > 10 ⁵	Qualsevol tractament antiretrovíric amb la condició de monitoritzar el VHB amb Tenofovir + Lamivudina o Emtricitabina	Monoteràpia amb Lamivudina o Emtricitabina
VIH i VHB	HBeAg + i -	Tractament antiretrovíric amb Tenofovir + Emtricitabina Lamivudina o	Monoteràpia amb Lamivudina o Emtricitabina
VHB resistent a Lamivudina	HBeAg + i -	Incloure Tenofovir al tractament antiretrovíric	Interrompre Lamivudina

6.2.5 Pronòstic de l'hepatitis B crònica

L'evolució de la malaltia és molt variable. Probablement hi ha factors genètics que s'associen a les diferents capacitat de mantenir la replicació viral en pausa. La magnitud del dany també es correspon a l'edat (normalment els nens tenen més replicació viral amb menys dany hepàtic), al sexe (habitualment la malaltia progressa millor en homes que en dones) i també al consum de drogues, alcohol i, la presència d'altres virus (com ara el VIH) són també factors

que dificulten el tractament i, consegüentment, fa que el tractament tingui una durada més llarga.

6.2.6 Protocol de seguiment de l'hepatitis crònica B

	Cada tres mesos mentre duri el tractament
Hemograma⁷⁰ complet	X
Bioquímica	
Urea	X
Creatinina ⁷¹	X
Colesterol	X
Triglicèrids	X
LDH ⁷²	X
Fosfatasa alcalina ⁷³	X
AST ⁷⁴	X
ALT ⁷⁵	X
GGT ⁷⁶	X
Albúmina	X
Hormones Tiroides⁷⁷	X
DNA-VHB per PCR	X
Marcadors d'hepatitis B	X
Efectes secundaris	X

6.3 Tractament quirúrgic

El tractament quirúrgic de l'hepatitis B es basa en el transplantament del fetge. Quan una persona està infectada del virus de l'hepatitis B desenvolupa una infecció crònica simptomàtica a mesura que passa el temps fins que el virus arriba a provocar una



Fig. 14 Trasplantació d'un fetge

⁷⁰ Hemograma

⁷¹ Creatinina

⁷² LDH

⁷³ Fosfatasa alcalina

⁷⁴ AST

⁷⁵ ALT

⁷⁶ GGT

⁷⁷ Hormones Tiroides

cirrosi hepàtica⁷⁸ i/o un carcinoma hepatocel·lular, que farà que sorgeixi una disfunció hepàtica que provoqui la mort del pacient. Per aquest motiu, quan la cirrosi hepàtica arriba a ocupar un volum important dels teixits del fetge, es necessita realitzar un transplantament hepàtic. En el cas d'un carcinoma hepatocel·lular, si no hi ha hagut metàstasi de la massa tumoral, també és necessari realitzar un transplantament, ja que, si hi ha hagut metàstasi, com que la massa tumoral ja s'ha propagat per tot l'organisme, no té sentit realitzar-ne cap. En aquest cas seria més lògic començar un tractament de quimioteràpia.

Ara bé, el fet de realitzar un transplantament de fetge a un pacient infectat amb hepatitis B, no significa que s'hagi curat o que hagi reduït el virus. Des del moment en què s'ha aplicat el transplantament del fetge a una persona infectada, aquest òrgan entra en contacte amb la sang de l'organisme, l'òrgan queda una altra vegada infectat, i això suposa que quan passi un temps, el pacient tornarà a necessitar un transplantament hepàtic provocat un altre cop per una cirrosi hepàtica evolucionada o per un carcinoma hepatocel·lular. Per aquest motiu, quan es programa un transplantament de fetge a un pacient, durant el període preoperatori i el període postoperatori, s'aplica un tractament on el virus disminueix al màxim la seva replicació viral i també disminueix la massa de virus que hi ha en tot l'organisme amb l'objectiu que, quan s'introdueixi el nou òrgan al cos, aquest tingui un percentatge molt petit de ser infectat.

7. POBLACIÓ DE RISC

Es considera com a població de risc un grup de persones que, per qualsevol motiu, tenen més probabilitat o estan més exposades a patir una infecció en el seu organisme. Així doncs, els grups de risc que tenen més exposició a contraure una hepatitis B són:

- Aquells que mantenen relacions sexuals de risc.
- Aquells que es tatuen o es perforen molt la seva pell.
- El personal sanitari.
- Aquells que comparteixen xeringues.
- Aquells que tenen promiscuïtat sexual.
- Aquells que reben transfusions de sang o algun tractament relacionat amb la sang.

⁷⁸ Cirrosi hepàtica

- Aquells que viatgen en zones on hi ha un elevat índex d'infecció pel virus de l'hepatitis B (com ja s'ha esmentat a l'apartat 3.2.1).

A part de fixar la vacunació en aquests grups, a més a més, també es recomana la vacunació en nadons i en adolescents, ja que el seu sistema immunològic no està tan desenvolupat com el d'un sistema immunològic d'una persona adulta, per tant, és aconsellable la vacunació en aquest cas. I finalment, també és recomanable la vacunació d'aquelles persones que conviuen amb altres infectats pel virus.

8. TÈCNiques CIENTÍFIQUES RELACIONADES AMB L'HEPATITIS B OBSERVADES A L'HOSPITAL CARLOS III

A continuació s'exposa per ordre cronològic les proves que es realitzen als laboratoris biomoleculars. Aquestes proves es podrien classificar en 5 grans blocs:

1. Extracció del plasma i extracció de les cèl·lules.
2. Càrrega viral.
3. PCR.
4. Genotipació.
5. Seqüenciació.

Cal destacar que aquestes proves es realitzen amb l'objectiu de genotipar i seqüenciar el virus, ja que, quan arriba la sang d'un pacient, ja sabem quina és la infecció que té perquè li han fet un seguit de proves concretes prèviament.

També cal esmentar que vaig tenir l'oportunitat de seguir amb detall aquests 5 blocs citats anteriorment, i també he tingut el plaer de realitzar una electroforesi (veure l'apartat 1.3).

Per acabar, només remarcar que l'extracció del plasma, l'extracció de cèl·lules i la PCR es poden seguir amb un document audiovisual que hi ha als annexos.

8.1 Separació de la sang en cèl·lules i plasma

A partir de la sang extreta del pacient, s'afegeix en un tub de microcentrífuga la sang i cicol i, posteriorment, es posa aquest tub a la màquina centrifugadora, de manera que quan la centrifugadora hagi acabat, s'obté, al tub de microcentrífuga per la part de

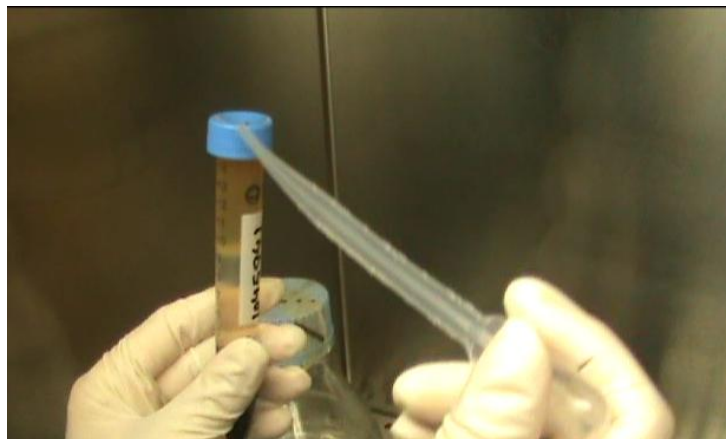


Fig. 15 Proveta amb sang, cicol, cèl·lules i plasma

dalt plasma i per sota del plasma, un núvol de cèl·lules i, més avall, el cicol i després l'hemoglobina.

Així doncs, amb una micropipeta s'extreu el plasma i es guarda per enviar-lo més tard a la secció de càrrega viral. A més a més, també s'extreu el núvol de cèl·lules que s'utilitzaran per fer colònies (aquestes colònies estan destinades a la investigació, de manera que sotmetran les cèl·lules infectades per un virus en unes condicions determinades i en uns medis farmacològics concrets per poder veure com evolucionen les colònies de cèl·lules). Però per poder formar colònies de cèl·lules, primer s'ha de posar el tub de microcentrífuga on s'ha guardat el núvol de cèl·lules a la màquina centrifugadora durant 5 minuts a 1.500 voltes per minut; i això farà que es formi un precipitat de cèl·lules enganxades a la part baixa del tub de microcentrífuga, de manera que es podrà decantar la part aquosa i obtenir un precipitat de cèl·lules.

Posteriorment, es realitzarà un recompte de cèl·lules. Per realitzar aquest recompte, s'afegeix 10 mil·lilitres de PBS amb el precipitat de cèl·lules i es barrejarà. Un cop fet això, amb una micropipeta es posarà una quantitat petita de la solució de cèl·lules amb PBS en uns "microquadrats" que, posteriorment, amb un microscopi, es podrà comptar el nombre de cèl·lules que hi ha per cada "microquadrat".

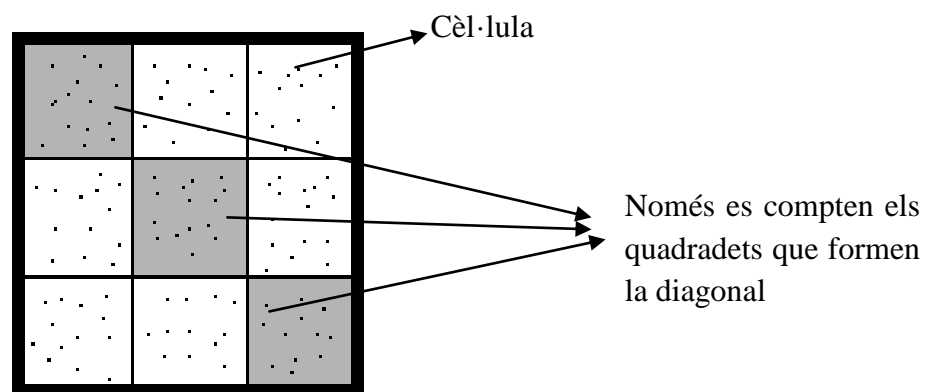


Fig. 16 Representació dels quadrats que es compten

Un cop realitzat tot això, les cèl·lules es podran conservar durant molt de temps en nitrogen líquid.

8.2 Càrrega viral

Quan arriba el plasma, a partir de la màquina *ABBOT M2000 sp*, es preparen tots els reactius necessaris amb l'objectiu d'extreure a partir del plasma els àcids nucleics virals (DNA en el cas que sigui hepatitis B, o bé RNA en el cas que sigui hepatitis C o SIDA).



Fig. 17 ABBOT M2000 sp

Així doncs, la màquina afegirà primer al plasma un tampó de lisi que tindrà la funció de trencar la cèl·lula sense fer malbé els àcids nucleics virals, per tal que es tinguin els àcids nucleics lliures pel plasma. Posteriorment la màquina hi posarà unes micropartícules que poden ser de sílice magnètic en el cas que es tingui DNA (hepatitis B), o bé unes micropartícules fèrriques en el cas que es tingui RNA (hepatitis C o SIDA). Aquestes micropartícules tindran la funció d'enganxar-se als àcids nucleics virals.

Una vegada es tenen les micropartícules enganxades als àcids nucleics virals, la màquina té uns imans sota els forats on hi ha els tubs d'assaig amb les micropartícules d'àcids nucleics virals, el tampó de lisi i el plasma. Així doncs, a partir del moviment que provoca la màquina als tubs d'assaig, pel magnetisme de les micropartícules, aquestes amb els àcids

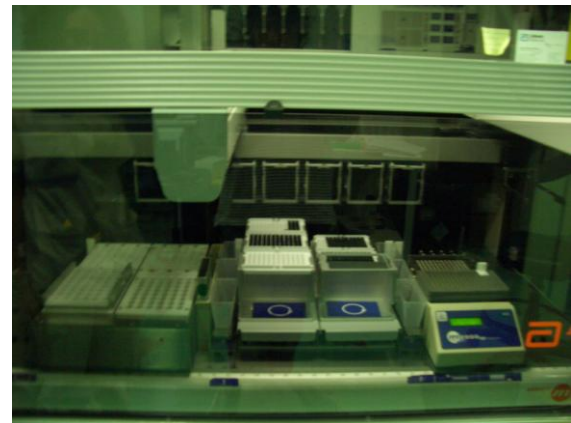


Fig. 18 ABBOT 2000

nucleics virals es precipitaran a la paret del tub; això permetrà buidar el tub per quedar-se només amb la part precipitada.

Després de tot això, es neteja el precipitat de micropartícules i àcids nucleics amb guanidina (*WASH 1*) i amb aigua destil·lada (*WASH 2*) per tal d'evitar que quedin possibles restes. Tot seguit, per separar els àcids nucleics virals de les micropartícules, es realitza l'elució dels àcids nucleics amb la finalitat de quedar-se amb el material genètic viral.

A més a més, aquesta màquina, quan ja ha obtingut els àcids nucleics, també hi afegeix els reactius necessaris per realitzar la PCR que a continuació s'explica.

8.3 PCR

La PCR és una tècnica de laboratori que s'utilitza per amplificar i fer còpies de zones concretes de DNA a partir de cicles de desnaturalització, sintetització de la cadena complementària i renaturalització.



Fig. 19 Micropipeta extraient els reactius de la PCR

Així doncs, si es segueix la ruta que s'està veient, es podrà observar que és fonamental realitzar una PCR perquè la quantitat d'àcids nucleics virals que s'han obtingut de la càrrega viral és tan escassa, que seria impossible realitzar la genotipació i la seqüenciació del virus. Per aquest motiu es considera que la PCR és una tècnica imprescindible.

A partir d'aquí, en una campana aïlladora es realitzarà la mescla dels reactius necessaris per realitzar la PCR, que són: el clorur de magnesi, l'aigua destil·lada, els primers inicialitzadors i els primers finalitzadors, la polimerasa i la transcriptasa inversa en el cas que es vulgui fer PCR de SIDA o hepatitis C (ja que la PCR només es pot realitzar partint de DNA i no de RNA). Un cop es tingui la mescla de reactius, en una altra campana, s'afegeix el material genètic viral que s'ha extret de la secció de càrrega viral als reactius. Això es fa en una altra campana per evitar els possibles contagis dels medis aïllats, ja que, si tot es realitzés en la mateixa campana, la probabilitat de contagi seria molt alta, i això faria que totes les PCR sortissin malament.

Una vegada està tot preparat, s'introduirà el tub on hi ha els reactius i el material genètic viral al termociclador i es programa els cicles de temperatura (termocicles) necessaris per poder realitzar la PCR que són:

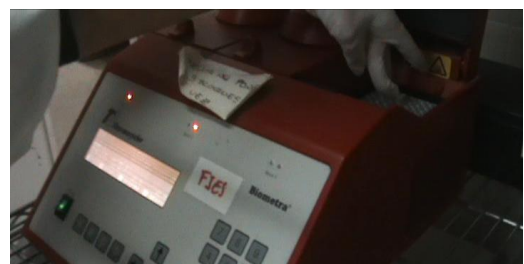


Fig. 20 Termociclador

Temperatura	Duració	Activitat
48°C	45 minuts	Transcripció inversa (en cas que tinguem RNA)
94°C	120 segons	Activació de la polimerasa
94°C	30 segons	Separació de les dues cadenes i realització de la cadena complementària (nº de cicles de PCR= nº de còpies x 40)
55°C	30 segons	
72°C	30 segons	
72°C	10 minuts	Es posa la cua poli-adenina per protegir el DNA

Un cop s'hagin realitzat els termocicles, es necessita realitzar una electroforesi per veure si s'ha realitzat correctament la PCR. Una electroforesi és una tècnica de laboratori que ordena els reactius per pes molecular i per polaritat elèctrica.

Així doncs, a partir de l'agarrosa, que és una substància que a temperatura ambient es troba en estat gel, s'escalfa fins que estigui en estat líquid i, tot seguit, s'afegeix el líquid a un motlle

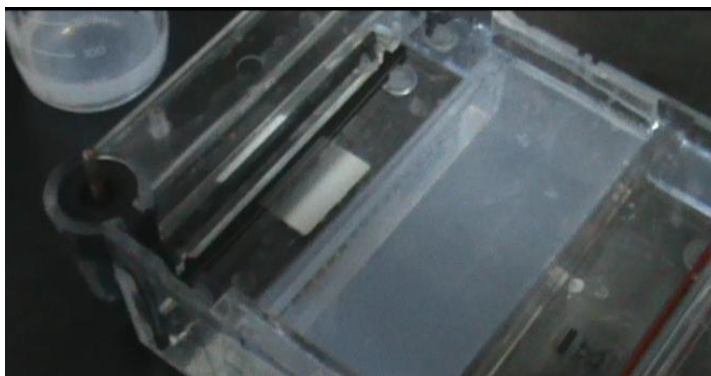


Fig. 21 Preparació d'una electroforesi

rectangular amb una pinta que ens crearà els pous on es posen més tard els reactius. A continuació, s'espera durant 30 minuts perquè l'agarrosa torni a l'estat gel. Quan ha passat el temps necessari, es retira la pinta i el motlle, i s'introdueix el gel en un recipient on es realitzarà l'electroforesi. Tot seguit, s'omple el recipient amb un líquid que tindrà la funció de ser el medi aquós i, després, amb una micropipeta s'agafen unes petites quantitats de DNA viral, prèviament tenyit, procedent de la PCR amb una substància que farà que no floti pel medi aquós i s'introdueixen dins del pou de gel fins arribar a omplir tots els pous. Més tard s'aplica 100 volts d'electricitat al medi aquós per provocar que els reactius genètics es desplacin per la seva polaritat negativa.



Fig. 22 Observació del resultat final d'una electroforesi

bromur d'etidi amb el gel, es retira el bromur d'etidi i es neteja el gel amb aigua destil·lada per expulsar les restes de bromur d'etidi que han quedat al gel. Posteriorment, amb una màquina que emetrà raigs ultraviolats, es podrà veure si tots els reactius estan situats al mateix nivell, ja que tots haurien de tenir el mateix pes molecular i la mateixa polaritat. Tot això servirà per veure si la PCR és correcta o no.

Un cop s'hagi aplicat l'electricitat durant 30 minuts, es barreja el gel amb bromur d'etidi ja que aquest tenyirà el material genètic viral, de manera que quan sotmetem el gel a raigs ultraviolats, aquest emetrà una llum verda que podrà ser captada per una càmera. Una vegada s'hagi barrejat el

8.4 Genotipació

La genotipació és un procés que consisteix en determinar el genoma específic d'un virus. Aquest procés és de vital importància perquè aporta al metge la informació necessària per saber quin tractament s'ha d'aplicar al pacient, i també si s'arribarà a extingir el virus. Per tant, això ens demostra que, encara que tinguem dos virus d'hepatitis B, les característiques que poden arribar a presentar poden ser diferents l'un de l'altre perquè tenen genomes diferents.



Fig. 23 Lipa

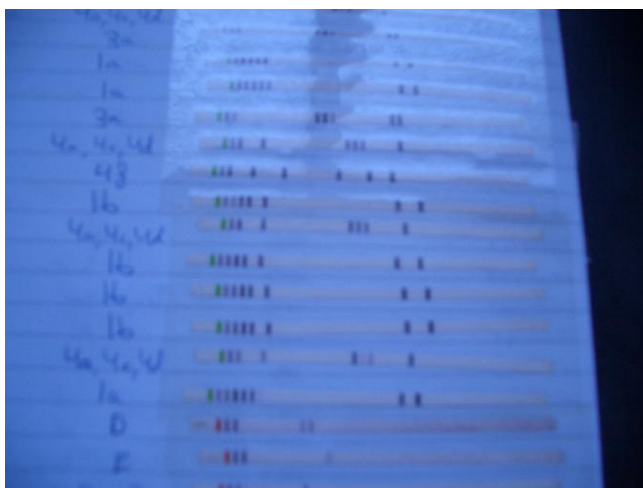


Fig. 24 Mostres de tires fetes per la Lipa

Aquest procés es realitza a partir d'una màquina anomenada *Lipa* que realitza la hibridació de les cadenes de DNA de manera que la màquina imprimeix unes tires amb unes ratlles de colors. Així doncs, a partir d'aquestes ratlles, es posa a sobre unes pautes que ens indiquen,

segons les ratlles, el genotip concret del qual està format el virus, de manera que es podrà veure el genotip del virus i, a més a més, veure si també ha creat alguna resistència, ja que les resistències es formen a partir de mutacions que es realitzen a la part genètica del virus, d'aquí que es poguessin arribar a veure també les resistències.

8.5 Seqüenciació

Un cop realitzada la genotipació, també es pot realitzar la seqüenciació del DNA (en el cas que parlem d'hepatitis B) que consisteix en la determinació de l'ordre de les bases nitrogenades d'una de les cadenes del DNA. Aquest procés es realitza amb una intenció investigadora, ja que, la seqüenciació del material genètic d'un virus ens serveix per l'estudi de la investigació bàsica dels processos biològics fonamentals.

La seqüenciació parteix del material genètic extret de la PCR (un cop hagin finalitzats els termocicles), que tot seguit es marcarà amb uns marcadors fluorescents. Un cop realitzat això, la màquina encarregada de realitzar la seqüenciació, primer, desnaturitzarà el DNA augmentant la temperatura i, tot seguit, realitzarà la separació de les dues cadenes de DNA. Posteriorment, es realitzarà la detecció de la fluorescència perquè cada base nitrogenada reflectirà una intensitat de fluorescència diferent i, a continuació, l'enregistrament de la intensitat fluorescent que quedarà registrada en cromatogrames on es presenten els diferents pics de fluorescència.

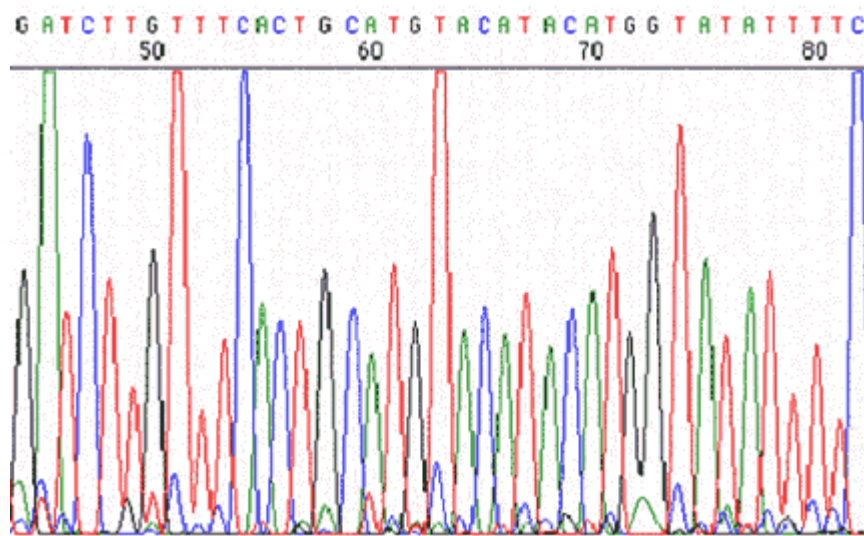


Fig. 25 Exemple de cromatograma

9. ENTREVISTES

9.1 Entrevista al Dr. Narcís Baguer

1. Biografia:

Narcís Baguer va néixer a Figueres i va estudiar la carrera de medicina a l'Hospital Clínic de Barcelona i geriatria a la Universitat de Montpeller. Va acabar els seus estudis superiors l'any 1983. Posteriorment, es va especialitzar en medicina familiar, i també ha realitzat un màster sobre la SIDA.

Ha treballat en diferents laboratoris, en centres de refugiats, en centres hospitalaris d'Àfrica i, actualment, està a la secció de serveis mèdics del centre penitenciari de Figueres.

2. Dins de la classificació de les hepatitis, quina és l'hepatitis més comuna entre la població penitenciària?

L'hepatitis més comuna és la C, amb un percentatge d'un 20%. Referent a l'hepatitis B, apareixen pocs casos d'infecció aguda gràcies a la vacunació, però, sí que apareixen més casos d'hepatitis B en interns que són portadors crònics.

3. Quines són les mesures preventives que s'han de tenir en compte quan arriba un intern infectat d'hepatitis?

Les mesures que s'han de tenir en compte són: la higiene (bàsicament de pell i de mucosa), el contacte amb altres persones i separar els utensilis que utilitza l'intern de la resta per poder realitzar una esterilització més intensa i, al mateix temps, per evitar que es puguin contaminar la resta dels utensilis del col·lectiu penitenciari.

Aquestes mesures preventives s'han de mantenir fins que obtinguem els resultats que permetin veure quin tipus d'hepatitis té, i també saber si n'és portador o no.

4. Existeix alguna possibilitat que un intern infectat d'hepatitis pugui contagiar la seva malaltia a altres interns o a altres funcionaris?

Sí, és possible que hi hagi un intern que sigui portador asimptomàtic (que té el virus però que no pateix la infecció causada per aquest). Però, no n'hi ha hagut mai cap, en el cas de l'hepatitis B aguda, perquè hi ha molta precaució i, pràcticament, és impossible que hi hagi un contagi ja que tots els interns són vacunats tan bon punt entren al centre penitenciari (en el cas que encara no n'estiguin).

5. Amb quina freqüència es troba interns infectats d'hepatitis?

Al cap de l'any es poden arribar a tenir uns 50 o 60 infectats d'hepatitis crònica simptomàtica, i menys de 5 casos a l'any amb hepatitis aguda. També cal destacar que són pocs els casos de portadors crònics asimptomàtics.

6. Quin és el perfil general d'un intern infectat d'hepatitis?

Un pacient simptomàtic és un home jove, menor de 40 anys, que normalment en el medi penitenciari és consumidor de drogues i, sobretot, també és consumidor habitual d'alcohol (aquest factor aporta més inconvenients al tractament de les hepatitis, ja que en dificulta la funció del fetge). A més a més, sovint presenta coinfecció amb un virus, que acostuma a ser el VIH.

7. Els interns infectats d'hepatitis poden realitzar les mateixes activitats que els altres interns no infectats?

Sí, aquells que no tenen hepatitis aguda perquè és una infecció que només es transmet per la sang. A diferència, aquells que són portadors crònics asimptomàtics no poden fer la mateixa rutina ja que la possibilitat de contagi és més alta. Per tant, aquests últims no participen en activitats com la cuina i els serveis públics.

8. Des del seu punt de vista, creu que el tractament d'un intern d'hepatitis és més fàcil comparat amb el tractament d'una persona de l'exterior amb hepatitis, o al contrari?

Des del meu punt de vista, és més fàcil el tractament dins del centre perquè està supervisat diàriament per un equip mèdic, és a dir, que no hi ha cap risc que el pacient pugui abandonar-lo. Així el control del medi és un avantatge per portar d'una manera més pautada i contínua el tractament. L'únic risc de fracàs en interns és atorgar-los l'alta un cop assoleixin la llibertat.

9. Els interns d'hepatitis tenen la possibilitat de seguir una dieta alimentària adequada?

Sí, segueixen la mateixa dieta alimentària que la població normal. L'únic inconvenient seria que ingerissin alcohol però als centres penitenciaris no es pot oferir begudes alcohòliques als interns en cap cas.

A més a més, durant les primeres setmanes d'un intern d'hepatitis, aquest segueix una alimentació baixa en greixos per evitar que el fetge tingui massa feina causada per l'augment del metabolisme dels lípids.

9.2 Entrevista a la Dra. Maria Victoria Humet Matilla, responsable de programes sanitaris dels centres penitenciaris

1. Biografia:

Na Maria Victoria Humet Matilla es va llicenciar en Medicina i Cirurgia a la Facultat de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona al juny de 1981. L'any següent, va acabar la seva tesina doctoral a la mateixa facultat.

Posteriorment, l'any 1986 es va diplomar en criminologia a la Facultat de Dret de la Universitat de Barcelona (UB) i, al 1988, va rebre el títol d'especialista en Medicina del

Treball a la Facultat de Medicina de la UB. L'any 1991 obté la titulació de Tècnic Superior en Salut Pública de la Generalitat de Catalunya.

Actualment és cap de la Secció de Programes Sanitaris i Sistemes d'Informació de la Direcció Gral. de Serveis Penitenciaris i Rehabilitació del Departament de Justícia de la Generalitat.

2. Quina és la seva funció i l'objectiu de la seva secció?

Pel que fa referència als diversos programes de prevenció i promoció de la salut implementats en el medi penitenciari català, la finalitat principal és aconseguir per a cadascun dels programes els objectius que fixa el pla de salut a Catalunya.

Amb aquest objectiu, les meves funcions concretes abracen: el registre i elaboració de les dades epidemiològiques a presons dels diferents programes; la revisió i tramitació de les declaracions oficials dels nous casos detectats a presons al Departament de Salut; la coordinació i supervisió de l'activitat dels responsables de programes en els diferents centres penitenciaris; la proposta i confecció de subprogrames adaptats a l'àmbit penitenciari; la redacció de protocols d'actuació en matèria sanitària; les inspeccions sanitàries relacionades amb el control de malalties, microepidèmies i brots de toxiinfecció alimentària; la participació en comissions i comitès de vigilància epidemiològica interdepartamentals, etc...

3. En el cas hipotètic d'una infecció a gran escala en diversos centres penitenciaris, produït principalment per via parenteral (ja que els interns disposen de poques xeringues, fet que incrementa més el contagi per aquesta via), quines mesures d'emergència predeterminades s'activarien?

Un important percentatge de casos són susceptibles de rebre la vacuna (el 70%) i inicien o continuen (ja que fora de presó també es porta a terme) el programa de vacunació antihepatitis B dins el nostre medi.

Encara que es produís una emergència, com que ja ho fem davant d'altres alarmes sanitàries (ex. l'actual grip A), les mesures immediates serien: la creació d'un comitè de crisi i

l'elaboració d'un protocol d'actuació específic per al nostre medi, confeccionat de manera conjunta amb els responsables del Departament de Salut i seguint les recomanacions de les autoritats sanitàries i comitès científics internacionals.

4. Segons la seva opinió, creu que el factor genètic és un factor que contribueix més fàcilment a ser vulnerable a la malaltia?

El virus de l'hepatitis B presenta una heterogeneïtat genòmica, però els diferents genotips, dels quals encara no es disposa de dades concloents sobre el seu significat clínic, solen correspondre a la distribució geogràfica diferent, i, probablement, a manifestacions clíniques també diferents. El que sí sabem és que l'únic reservori és l'humà per infectar a altres individus. Animals, com l'orangutan, el goril·la, el ximpanzé etc., poden estar infectats crònicament però per subtipus dels virus.

5. Deixant de banda el factor genètic, quins són els factors de risc que són més presents als centres penitenciaris per contraure hepatitis B?

Ha estat el fet de compartir material de venopunció, pràctica que en els darrers anys ha disminuït molt entre els interns, gràcies a les campanyes d'informació i educació sanitària.

6. Respecte al tractament de l'hepatitis B (tant sí és aguda com crònica), vostè sap que existeixen diversos tractaments farmacològics per l'hepatitis B. La meua pregunta és: en un intern infectat per hepatitis B, quin metge penitenciari/responsable té el paper de decidir el tractament específic?

En primer lloc, diferenciar la infecció aguda de la crònica, atès que la immensa majoria de pacients amb infecció simptomàtica aguda pel virus de l'hepatitis B, habitualment no es tracta. Afegir també, que determinats grups són exclosos del tractament, com per exemple, els nens, les dones embarassades, els malalts renals o els pacients coinfectats per altres virus que afecten al fetge (hepatòtrofs).

En segon lloc, i en general, pels casos d'infecció crònica pel virus de l'hepatitis B en què es decideix iniciar un tractament, dir que és el facultatiu penitenciari el responsable de valorar la situació sanitària individual de cada malalt i que, de manera conjunta amb l'assessorament de l'internista que es desplaça al centre o l'hepatòleg de l'hospital de referència, fa la prescripció.

El més important, insisteixo, és la valoració facultativa, és a dir, conèixer si al pacient convé ser tractat, fet que dependrà de factors virals i del pacient, per exemple: presenta molta replicació viral?, es troba coinfectat pel virus de l'hepatitis C? o el VIH?, té altres patologies associades?, consumeix substàncies?, pren medicació psiquiàtrica?, quina edat té?, ha patit molts episodis inflamatoris recurrents?. En base a aquests factors, es recomana o no l'inici del tractament.

7. És habitual trobar-nos en casos on torna a ressorgir el VHB en interns que havien extingit el virus en el seu organisme?

No és habitual, malgrat que podria passar en casos de mutacions virals.

8. El seguiment que rep un intern amb hepatitis B és molt diferent a una persona de l'exterior infectada per la mateixa malaltia atès que el seguiment de l'intern és molt més diari i supervisat que el seguiment d'una persona de l'exterior. La meua qüestió és: quines mesures estableixen els programes sanitaris pel seguiment sanitari d'un intern?

Personalment, considero que el seguiment que reben els infectats d'hepatitis B és idèntic dins o fora de presó i, per tant, les mesures establertes a presó no difereixen de les recomanades a l'exterior per un malalt no privat de llibertat. No obstant això, considero important remarcar la insistència i la persistència amb què actuen els equips sanitaris dels centres en informar i educar adientment els afectats sobre els mecanismes de transmissió i les mesures preventives per evitar contagis.

- 9. Des del seu punt de vista, quin futur pronostica al virus de l'hepatitis B, és a dir, creu que en un futur, aquesta malaltia arribarà a extingir-se; o pel contrari, seguirà present en la societat?**

Només s'ha pogut eradicar una malaltia, la verola. Per tant, segons el meu parer, aquesta infecció persistirà en els humans. Només s'extingiria si s'aconseguís vacunar el 100% de la població i la vacuna fos sensible i eficaç en totes les persones vacunades.

CONCLUSIÓ

Podria resumir l'elaboració del treball com una experiència personal molt positiva i fructífera, tant pels coneixements adquirits com per la sensació personal que m'ha aportat. Des d'un principi, ja sabia que volia centrar-me en un tema relacionat amb alguna malaltia que afectés el sistema digestiu o el sistema immunològic humà. Així doncs, quan vaig començar a plantejar-me realitzar específicament un treball sobre l'hepatitis B, creia que no podria tirar endavant aquest projecte a causa de la seva difícil, gairebé impossible, aplicació pràctica. Aquest impediment va fer que al principi de la recerca del treball estigués una mica desmotivats. Tot i això, quan vaig haver començat a buscar contactes, encara que alguns em tanquessin les portes automàticament, vaig tenir sort. A partir d'aquí, vaig veure que podria complir finalment un dels meus objectius principals: poder donar un enfocament pràctic al meu treball. Gràcies a això, quan vaig acabar la part pràctica del treball, llavors vaig sentir una satisfacció interior que va compensar tots els esforços i les hores de feina invertides al treball.

A més a més, l'estada a l'Hospital Carlos III de Madrid em va suposar un ventall de sensacions i emocions que van assegurar el meu interès per dedicar-me al món de la medicina. Quan estava als laboratoris, moltes vegades m'avançava a les explicacions que em feia el personal del laboratori, fet que els demostrava una preparació i una base científica prèvies a l'accés als laboratoris.

Des d'una òptica crítica, crec que la societat en general hauria de rebre una educació higiènica i una educació sexual molt més profundes i millors perquè, a la meua opinió, la manca d'aquests aspectes en l'educació general de la societat és un dels culpables directes de l'adquisició no tan sols del virus de l'hepatitis, sinó de la gran majoria de malalties de transmissió fàcil. És per aquest motiu que s'hauria d'ensenyar des dels més petits fins als més grans aquests hàbits i costums tan essencials de la vida humana.

Finalment, animo a tothom en general a seguir els consells esmentats al paràgraf anterior amb la finalitat de poder gaudir d'una vida plena i joiosa.

Agraïments

Voldria dedicar un especial agraïment al Dr. Juan Maria González Lahoz, sense l'ajuda del qual res d'això no hauria estat possible. També voldria donar un especial reconeixement a Dolors Padrosa, amb la qual hi tinc confiança i, des de sempre, m'ha dedicat un especial suport al llarg de la meva formació educativa i personal.

A més a més, també voldria demostrar el meu regraciament al personal del laboratori de l'hospital, al Dr. Narcís Baguer, a la Dra. Maria Victoria Humet i a la Roser Bech per la seva cooperació.

Finalment, agrair la constant col·laboració de la Sònia Costa i de la Mònica Barranco per la seva atenció i els seus consells.

REFERÈNCIES

BIBLIOGRAFIA

- Esteban, Rafael. *Orientaciones para un mejor manejo de la Hepatitis B en España*. Col·laboradors: Sociedad Española de Médicos de Atención Primaria, Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria, Sociedad Española de Médicos Generales y de Familia, Sociedad Española de Sanidad Penitenciaria.
- López, Soledad, Ángeles Castro, Pilar Vázquez, José Domingo. *Manual práctico del tratamiento de las Hepatitis Crónicas Víricas*. A Coruña: Ed. patrocinada per Roche. ISBN 978-84-96727-34-2.
- Soriano, Vicente i Juan González-Lahoz. *Hepatitis víricas*. Patrocinat per: Bristol-Myers Squibb, Roche, Schering-Plough.
- Soriano, Vicente i Juan González-Lahoz. *Coinfección por VIH y Virus de la Hepatitis B*. Mallorca: Publicaciones Permanyer S.L., 2003.
- Soriano, Vicente i Juan González-Lahoz. *Toxicidad hepática de los antirretrovirales*. Mallorca: Publicaciones Permanyer S.L., 2007.

WEBGRAFIA

- www.hepatitis.cl/hbv.htm [en línia]
- wwwstatic.megavideo.com/ep_gr.swf?confirmed=1&u=0&v=WTORU9JG [en línia]
- www.hcvsinfronteras.org.ar/index.php/proyectos/ [en línia]
- www.juntadeandalucia.es/averroes/~29701428/salud/higado.htm [en línia]
- www.anatomia.tripod.com/anatomia_higado.htm [en línia]
- www.alfa1.org/info_alfa1_higado_cirrosis.htm [en línia]
- www.hepatitisbforum.com/presentacion.asp?requestlogin=yes [en línia]
- http://estaticos01.cache.el-mundo.net/elmundosalud/imagenes/2005/09/29/1127993030_0.jpg [en línia]

ANNEXOS

ANNEX 1: Glossari de termes mèdics (pàg. 51)

ANNEX 2: Funcionament del *Lipa* (màquina per genotipar) (pàg. 60)

ANNEX 3: Explicació visual de la PCR (pàg. 62)

ANNEX 4 (audiovisual): El DVD de les tècniques científiques aplicades a l'hospital Carlos
III

ANNEX 1. GLOSSARI DE TERMES MÈDICS

1. **Genotips virals:** Un genotip viral és el conjunt de factors hereditaris i la constitució genètica d'un virus.
2. **Icterícia:** La icterícia és la coloració groguenca de la pell i mucoses provocat per un augment de la bilirubina, que s'acumula als teixits, sobretot a aquells amb major nombre de fibres elàstiques.
3. **Gibons:** Els gibons són primats que es caracteritzen per tenir un parentesc ben proper als éssers humans i als grans simis.
4. **Arbre filogenètic:** Un arbre filogenètic és un arbre que mostra les relacions d'evolució entre espècies o altres entitats, que es creu que varen tenir una descendència comuna.
5. **Simis:** És el terme amb el qual es denomina a un ampli conjunt de primats simiformes.
6. **Dades de seqüències:** Són totes les dades de seqüenciació del material genètic.
7. **Hepadnavirus:** L'hepadnavirus és un grup de virus que constitueixen la família *hepadnaviridae*, on el genoma està format per DNA. Causen hepatitis tant als éssers humans com en altres espècies animals.
8. **Hepatitis lupoide:** L'hepatitis lupoide és la inflamació del fetge que s'origina quan les cèl·lules immunitàries confonen les cèl·lules normals del fetge per invasors malignes i, per tant, ataquen les cèl·lules del propi organisme.
9. **Anticòs anti-citoplasmàtic:** L'anticòs anti-citoplasmàtic comprèn un grup heterogeni d'anticòsos contra enzims.
10. **Cèl·lula LE:** La cèl·lula LE és una cèl·lula que ha fagocitat el nucli d'una altra cèl·lula.

11. **Histopatologia necrosis periportal:** Mort cel·lular dels espais porta (l'espai porta és el lloc d'influència d'una vena porta).
12. **Hipergammaglobulinemia:** Són nivells alts de gammaglobulina.
13. **HLA-B8:** El sistema que s'activa quan s'exposa un antígen, va unit a molècules HLA-B8.
14. **HLA-DR3:** El sistema que s'activa quan s'exposa un antígen, va unit a molècules HLA-DR3.
15. **Esteroides:** Els esteroides és una substància policíclica derivada del colesterol, són esteroides la vitamina D, els àcids biliars, les hormones, etc.
16. **Carcinoma hepatocel·lular:** És un càncer del fetge, que constitueix el 80-90% dels tumors hepàtics malignes primaris.
17. **Estrògens:** Els estrògens són hormones sexuals de tipus femení produïts pels ovaris. Els estrògens indueixen fenòmens de proliferació de cèl·lules sobre els òrgans, principalment, l'endometri, la mama i el mateix ovari.
18. **Hormona:** Les hormones són substàncies segregades per cèl·lules especialitzades. Tenen la finalitat d'afectar la funció d'altres cèl·lules.
19. **Tumor:** Un tumor és qualsevol alteració dels teixits que en produeix un augment del volum. Per tant, és un engrossiment anormal d'una part del cos.
20. **Bilis:** La bilis és una substància alcalina groguenca produïda pel fetge. Intervé en els processos de digestió amb la funció emulsionant dels àcids grassos.
21. **Fibrinogen:** El fibrinogen és una proteïna soluble del plasma sanguini precursor de la fibrina. És el responsable de la coagulació de la sang quan es produeix una ferida.

22. **Lipoproteïnes:** Les lipoproteïnes són complexos macromol·culars compostos per proteïnes i lípids que transporten massivament els lípids per tot l'organisme.
23. **Cèl·lula endotelial:** És un tipus de cèl·lula aplanada que recobreix els vasos sanguinis, sobretot el dels capil·lars, i que forma part de la seva paret.
24. **Membrana basal:** La membrana basal és una capa acel·lular d'espessor variable i que es troba a la base dels teixits epitelials.
25. **Duodè:** El duodè és la part de l'intestí prim curt que connecta l'estómac amb el jejú. Després que els aliments es combinin amb l'àcid gàstric, baixen al duodè, on es barregen amb la bilis procedent de la vesícula biliar i dels suc digestius del pàncrees.
26. **Via biliar:** La via biliar és un conjunt de conductes intra i extrahepàtics per on passa la bilis fins a desembocar al duodè.
27. **Glucosa:** La glucosa és un tipus de sucre del grup dels monosacàrids.
28. **Aminoàcids:** Els aminoàcids són molècules orgàniques que tenen un grup amino i un grup carboxil. La combinació de diferents aminoàcids forma una proteïna.
29. **Lactats:** El lactat és un compost orgànic que es genera de forma natural en el cos de cada persona.
30. **Glicerol:** El glicerol és un alcohol amb tres grups hidroxils.
31. **Glicogen:** El glicogen és un polisacàrid de reserva energètica dels animals que s'emmagatzema al fetge i als músculs.

32. **Insulina:** La insulina és una hormona produïda per una glàndula anomenada pàncrees. La insulina ajuda a què els sucres obtinguts a partir de l'aliment que ingerim arribin a les cèl·lules de l'organisme per subministrar energia.
33. **Colesterol:** El colesterol és un lípid que es troba en els teixits i en el plasma sanguini dels vertebrats. Es presenta en altes concentracions al fetge, medul·la espinal, pàncrees i cervell.
34. **Triglicèrids:** Els triglicèrids és un tipus de lípid format per una molècula de glicerol, que tenen esterificats els seus tres grups hidroxils per tres àcids grassos.
35. **Albúmina:** L'albúmina és una proteïna sintetitzada al fetge, i que es troba en una gran proporció al plasma sanguini. La seva mesura és un bon indicador de la funció sintètica del fetge.
36. **Heparina:** L'heparina és una substància que es troba a la sang i que interfereix en el procés de la coagulació sanguínia.
37. **Protrombina:** La protrombina és una proteïna del plasma que forma part del procés de la coagulació mitjançant la seva reacció amb un enzim.
38. **Toxina:** La toxina és una proteïna que causa danys concrets a un organisme. Als vertebrats, les toxines són destruïdes per acció enzimàtica procedents del fetge.
39. **Amoni:** L'amoni és un ió monovalent positiu.
40. **Necrosis hepatocel·lular:** Necrosis al fetge per alguna causa.

41. **Via parenteral:** La via parenteral és qualsevol via que implica l'administració de fàrmacs directament per injecció.
42. **Transmissió entèrica:** La transmissió entèrica és la via fecal-oral.
43. **Virus de Epstein-Barr:** És un virus de la família *hepervirus*, i és un dels virus més comuns en humans. Molta gent ha sigut infectada per aquests virus sense causar-ne cap malaltia.
44. **Citomegalovirus:** El citomegalovirus és una forma d'herpes-virus. El seu nom fa referència a l'augment de la grandària que s'observa en les cèl·lules infectades producte del debilitament del citoesquelet.
45. **Serotip:** Un serotip és un tipus de microorganisme infeccios classificat segons els antígens que presenten a la seva superfície cel·lular. Els serotips permeten classificar organismes a nivell de subespècie.
46. **Genotips:** El genotip és el contingut genètic d'un individu, en forma de DNA.
47. **Endèmia:** És un procés patològic que es manté al llarg de molt de temps en una població o zona geogràfica determinada.
48. **Via fecal-oral:** Tipus de transmissió d'una malaltia quan les partícules fecals d'un hospedant s'introdueixen a la boca d'un altre potencial hoste.
49. **Transmissió vertical:** Aquella que es produeix durant la gestació, el part o la lactància, d'una mare infectada per un virus.

50. **Nucleocàpsida:** És una estructura proteica formada per una sèrie de monòmers anomenats capsòmers.
51. **Via parenteral:** Qualsevol de les vies que implica l'administració de substàncies directament per infecció.
52. **Antigen:** És una substància que indueix a la formació d'anticossos, ja que el sistema immune el reconeix com una amenaça. Aquesta substància pot ser estranya (no nativa), procedent del medi ambient o formada dins del cos en forma de toxina.
53. **HBsAg:** El HBsAg és l'antigen de la coberta de l'hepatitis B.
54. **RNA missatger:** És l'àcid ribonucleic que conté la informació genètica procedent del DNA per utilitzar-se per la síntesi de proteïnes.
55. **Ribosoma:** Són complexos encarregats de sintetitzar proteïnes a partir de la informació genètica del DNA transcrita en forma de RNA missatger.
56. **Reticle endoplasmàtic rugós:** És un orgànul encarregat de la síntesi i el transport en general.
57. **Patogènesi:** Descriu l'origen i l'evolució d'una malaltia amb tots els factors que hi estan involucrats.
58. **Gastroenteròleg:** Un gastroenteròleg és aquell metge especialitzat a tractar totes les malalties de l'aparell digestiu conformat per: esòfag, estómac, fetge i vies biliars, pàncrees, intestí prim, còlon i recte.
59. **Transaminases:** Les transaminases són enzims, principalment localitzats al fetge. La funció més important de les transaminases per l'organisme és la transformació de substàncies.

60. **PCR:** La PCR és una tècnica que permet duplicar un nombre il·limitat de vegades un fragment de DNA en un tub d'assaig. Gràcies a aquesta tècnica, es pot generar milions de molècules idèntiques, a partir d'una molècula de DNA.
61. **Fibrosi:** La fibrosi és la formació o el desenvolupament d'un excés de teixit connectiu fibrós en un òrgan o teixit com a conseqüència d'un procés reparatiu o reactiu. Generalment, la fibrosi es produeix per un procés inflamatori.
62. **Septes fibrosos:** Quan es produeix una fibrosi, es formen unes agrupacions de fibres que formen septes.
63. **Immunodepressors:** Qualsevol substància que produeix un descens immune.
64. **Transcriptasa inversa:** La transcriptasa inversa és un tipus d'enzim DNA-polimerasa que té com a funció sintetitzar DNA de doble cadena utilitzant com a motlle RNA monocatenari. Aquest enzim és molt freqüent en els retrovirus.
65. **Seroconversió del HBeAg:** És la pèrdua del HBeAg i la detecció d'anti-HBe en una persona que prèviament era HBeAg positiu i anti-HBe negatiu.
66. **Exacerbació aguda:** És l'elevació intermitent dels nivells de transaminases per enzim de 10 vegades al límit superior de la normalitat o dues vegades per enzim dels basals.
67. **Astènia:** L'astènia és una sensació generalitzada de debilitat física i psíquica, amb principal incidència entre les persones de 20 a 50 anys, i major preponderància en les dones que en els homes.
68. **Cefalea:** La cefalea són aquells dolors i molèsties localitzades en qualsevol part del cap, en els diferents teixits de la cavitat craniana, en les estructures que l'uneixen a la base del crani, els músculs i vasos sanguinis que envolten el cabell, cara i coll.

69. **Nefrotoxicitat:** La nefrotoxicitat és una afectació renal per tòxics que es caracteritza per les alteracions funcionals o estructurals.
70. **Hemograma:** Un hemograma és una anàlisi de sang on es mesura en global i en percentatges els tres tipus bàsics de cèl·lules que conté la sang: sèrie eritrocitari, sèrie leucocitària i sèrie plaquetària.
71. **Creatinina:** La creatinina és un compost orgànic a partir de la degeneració d'un nutrient dels músculs anomenada creatina. La mesura de la creatinina és la manera més simple de monitoritzar la correcta funció dels ronyons.
72. **LHD:** El LHD és un enzim que es troba en molts teixits del cos, però es troba sobretot al cor, fetge, ronyons, músculs, eritròcits, cervell i pulmons. La seva mesura ens serveix per avaluar la presència de lesions en teixits.
73. **Fosfatasa alcalina:** La fosfatasa alcalina (FA) és un enzim que es troba en quasi tots els teixits del cos, però es troba en abundància al fetge, vies biliars i ossos. La seva mesura s'utilitza per avaluar problemes o alteracions al fetge.
74. **AST:** També anomenat aspartat aminotransferasa, és un enzim que es troba en diferents teixits, especialment al cor, al fetge i al teixit muscular. La seva mesura es fa servir per avaluar infermetats del fetge, infermetats cardíacs, i altres infermetats sistemàtics.
75. **ALT:** És un enzim alanina transaminasa que es troba en major quantitat al fetge. Aquest examen s'utilitza per determinar si un pacient té danys hepàtics.
76. **GGT:** També anomenat gamma-glutamil transpeptidasa, és un enzim hepàtic que si el seu nivell és elevat pot indicar problemes al fetge.

77. **Hormones tiroides:** És una hormona que afecta la freqüència cardíaca, la pressió arterial, la temperatura corporal i el pes. La seva secreció es realitza a la glàndula tiroidea.
78. **Cirrosis hepàtica:** La cirrosis hepàtica és una condició ocasionada per malalties cròniques del fetge que provoquen la formació de teixit cicatricial i dany permanent al fetge. El teixit cicatricial que es forma en la cirrosis hepàtica danya l'estructura del fetge i en bloqueja el flux sanguini a través de l'òrgan.

ANNEX 2: FUNCIONAMENT DE LA LIPA (màquina per genotipar)

GUÍA RÁPIDA AUTO-LIPA 48 INNO-LIPA HBV

1. Encender el aparato con el interruptor situado en la parte trasera izquierda.

COLOCACIÓN DE LOS REACTIVOS

Colocar los reactivos en las siguientes posiciones (ver preparación detrás) :

- Bomba 1 (verde) : SOLUCIÓN DE HIBRIDACIÓN (HS, lista para usar) (*)**
- Bomba 2 (azul) : TAMPÓN DE LAVADO ASTRINGENTE (SW, listo para usar) (*)**
- Bomba 3 (naranja) : TAMPÓN DE ACLARADO (RS, diluido 1:5 en H₂O dest.)**
- Bomba 4 (roja) : CONJUGADO DILUIDO (C diluido 1:100 en CD)**
- Bomba 5 (blanca) : DILUYENTE DE SUBSTRATO (SB, listo para usar)**
- Bomba 6 (amarilla) : SUBSTRATO DILUIDO (S diluido 1:100 en SB)**

(*): Colocar los reactivos sobre la placa calefactora antes de iniciar el ensayo.

2. Aparecerá **Main FW Run**. Pulsar **↵**.
3. Aparecerá **Run program**. Pulsar **YES**.
4. Aparecerá **Waste bottle OK ?**. Comprobar que la botella de desecho está vacía y los tubos de desecho se han colocado correctamente. Pulsar **YES**.
5. Aparecerá **Check sieves !!** . Pulsar la tecla **YES**.
6. Seleccionar con los botones **+ / -** el programa **HBV1**. Pulsar **YES**.
7. Aparecerá **Temp 49°C**. Pulsar **YES**. Aparecerá **Preparing in progress**. Esperar que el AUTO-LIPA alcance la temperatura de trabajo y emita una señal acústica.
8. Aparecerá **INSERT TRAY!**. Colocar la bandeja (80630), las tiras necesarias INNO-LIPA HBV DR, GT ó PC y:

10 µl sol. desnaturalización + 10 µl muestra amplificada (con los primers correspondientes al equipo que se vaya a ensayar) ó 10 µl blanco amplificado

Pulsar cualquier tecla.
9. Aparecerá **Stpos Strip : 01**. Con la ayuda de las teclas **+/-**, indicar la posición de la primera tira a procesar (1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28). Pulsar **YES**.
10. Aparecerá **Nr of Strips : 48** . Con ayuda de las teclas **+ / -**, indicar el **Nº TOTAL DE TIRAS** que se van a procesar. Pulsar **YES**.
11. Aparecerá **Last aspiration ?**. Pulsar **NO**.
12. Aparecerá **Proc. 1 Inc**. Pulsar **YES**. A partir de este momento el proceso es automático hasta finalizar el ensayo

MANTENIMIENTO DIARIO

Una vez terminado el uso del AUTO-LiPA, debe realizarse un lavado con agua destilada. Poner en cada una de las bombas un recipiente con agua destilada.

1. Aparecerá **Run program**. Seleccionar con las teclas < > la opción **Liquid Prep**. Pulsar **YES**.
2. Seleccionar con las teclas < > la opción **Auto Clean**. Pulsar **YES**.
3. Aparecerá **CLEAN LIQUID ?** Pulsar **YES**. El lavado de todas las bombas se realiza entonces de forma automática. Después aparecerá **DESTILLED WATER ?**. Pulsar **YES**. Al final aparecerá **Tub cleaning!** . Pulsar cualquier tecla.
4. Aparecerá **WATER REMOVE**. Pulsar **EXIT**. Aparecerá **Auto Clean**. Pulsar **EXIT**. Aparecerá **Run program**. El Autolipa queda listo para una posterior utilización.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

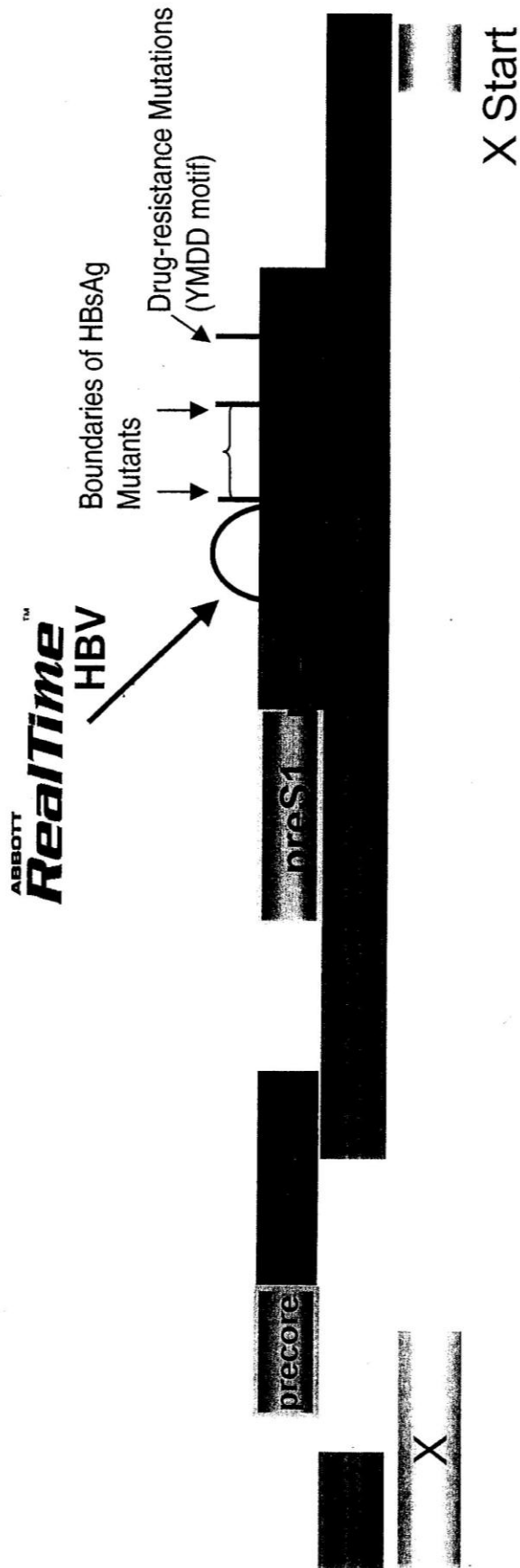
	1 tira	N tiras	exceso (fijo)
Solución de hibridación (HS): Bomba 1 *	2 ml	2 x N ml	3 ml
Lavado astringente (SW): Bomba 2 *	6 ml	6 x N ml	10 ml
Tampón de lavado: Bomba 3			
tampón 5X (RS)	2.4 ml	2.4 x N ml	2 ml
agua destilada	9.6 ml	9.6 x N ml	8 ml
Conjugado 1X: Bomba 4			
conjugado 100X (C)	20 ul	20 x N ul	30 ul
diluyente de conjugado (CD)	2 ml	2 x N ml	3 ml
Tampón sustrato (SB): Bomba 5	2 ml	2 x N ml	3 ml
Sustrato 1X: Bomba 6			
sustrato 100X	20 ul	20 x N ul	30 ul
tampón sustrato (SB)	2 ml	2 x N ml	3 ml

* És importante atemperar a 49 °C la soluciones de hibridación y lavado astringente poniéndolas en la placa calefactora del autoLiPA cuando éste empieza su funcionamiento.

- Reactivos 1, 4, 5, 6: debe haber un mínimo de 3 ml de exceso de los reactivos para cebar los circuitos, homogeneizar bien antes de colocar en las bombas (ya están contados en los cálculos de la preparación de los reactivos)
- Reactivos 2, 3: debe haber un mínimo de 9 ml de exceso de los reactivos para cebar los circuitos, homogeneizar bien antes de colocar en las bombas (ya están contados en los cálculos de la preparación de los reactivos)

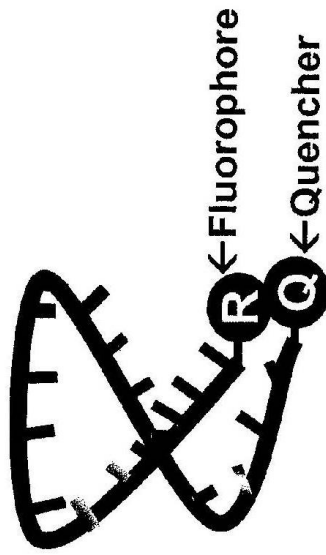
ANNEX 3: EXPLICACIÓ VISUAL DE LA PCR

RealTime HBV Design

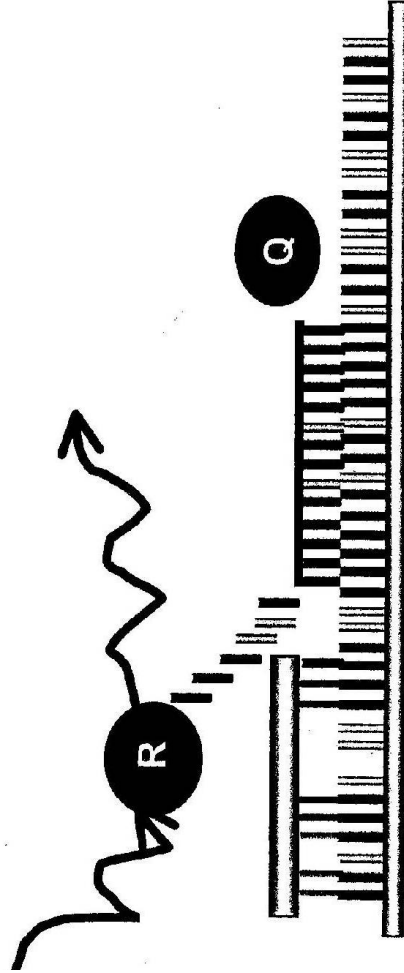


HBV Probe Design

TaqMan Probe Design



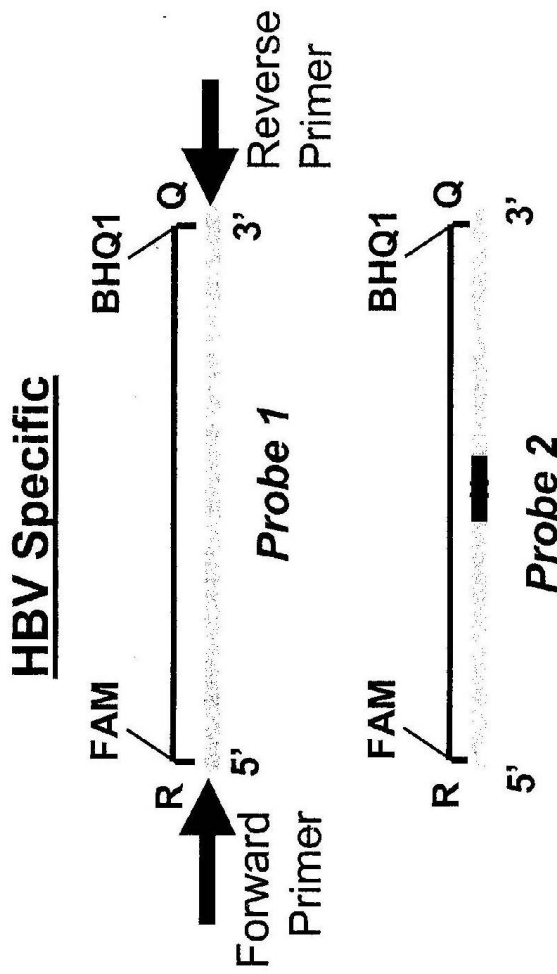
- In the absence of target, the energy from the excited fluorophore is absorbed by the quencher preventing fluorescent signal generation.
- These are linear probes that fold naturally into a random coil to be in the "off" configuration.



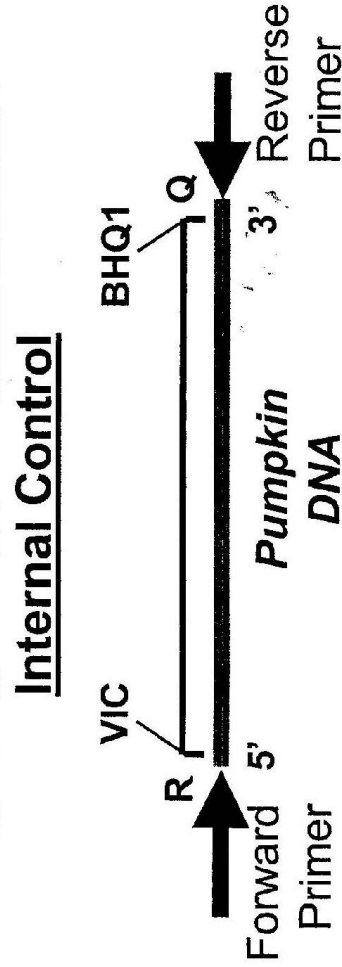
- In the presence of target, probe hybridization and primer extension occur simultaneously. The fluorescent signal is generated through cleavage of the fluorophore via the 5' exonuclease activity of the polymerase enzyme.

Primers and Probes

- 2 probes are used for detection of HBV amplification:
 - Probe 1 is designed to be complementary to the HBV target region
 - Probe 2 is designed to be complementary to a sub-population of genotype C sequences
- The two HBV probes differ by one base in the center of the sequence
- ✓ Mismatch tolerance was improved by adding a second probe complementary to a subpopulation of genotype C sequences.



- 1 probe is used for the detection of the internal control, which is comprised of a DNA sequence unrelated to the HBV target sequence.



- ✓ Pumpkin DNA

Cycling Conditions

- The cycling conditions for the Abbott RealTime HBV allow primer and probe hybridization, primer extension, and detection to occur simultaneously.
- All probes are designed to hybridize to their respective targets at the temperature at which both primers anneal and the optical read occurs.

